

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Uso de um novo método de agitação para micro-extração em fase sólida –  
SPME - na determinação de fenóis em água.**

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Química,  
Departamento de Química,  
Universidade Federal de Santa Catarina,  
como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Química.

ALUNA: RENATA CRISTIANO NOME  
ORIENTADOR: Dr. EDUARDO CARASEK DA ROCHA  
Florianópolis, 2002.

Renata Cristiano Nome

Uso de um novo método de agitação para micro-extração em fase sólida – SPME-  
na determinação de fenóis em água.

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre  
em Química no Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal  
de Santa Catarina, pela comissão formada pelos professores:

---

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha  
**Dep. de Química - Orientador**

---

Prof. Dr. Faruk Nome  
Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Química

**Banca examinadora**

---

Prof. Dr. Fabio Augusto  
Dep. de Química - UNICAMP

---

Prof. Dr. Edgard Moreira Ganzarolli  
Dep. de Química - UFSC

---

Prof. Dr. Luiz Augusto do Santos Madureira  
Dep. de Química - UFSC

*“A necessidade é a mãe da criação”*

*Povo de Bouganville*

## SUMÁRIO

Índice de figuras.....	i
Índices de tabelas.....	x
Siglas e Abreviações.....	xi
Resumo .....	xii
Abstract.....	xiii
1. Introdução.....	1
1.1. Princípios básicos da SPME.....	3
1.2. Parâmetros que afetam a eficiência da extração SPME.....	7
1.3. Seleção da técnica de agitação e cinética do processo de SPME.....	9
1.4. Aplicação da SPME para análise de fenóis em amostras ambientais.....	15
1.5. Derivatização e SPME.....	16
1.6. Desenvolvimento de novas fibras: outra alternativa para análise de fenóis por SPME.....	17
2. Objetivos.....	19
2.1. Objetivos gerais.....	19
2.2. Objetivos específicos.....	19
3. Parte experimental.....	20
3.1. Reagentes.....	20
3.2. Materiais.....	20
3.2.1. Cromatografia Gasosa.....	20
3.2.2. Sistema de injeção em fluxo.....	21
3.2.3. Preparo da fibra recoberta com óxido de nióbio (V).....	21
3.3. Procedimentos de SPME.....	22
3.3.1. Agitação magnética.....	22
3.3.2. Cella <i>flow-through</i> .....	24
3.3.3. Cella <i>flow-through</i> segmentada com bolhas de ar.....	25
4. Resultados e discussões .....	27

4.1. Fenóis livres.....	27
4.1.1. Otimização das condições cromatográficas.....	27
4.1.2. Otimização das formas de agitação da amostra.....	30
4.1.3. Obtenção das figuras de mérito analítico.....	35
4.1.4. Comparação da eficiência dos métodos de agitação da amostra.....	41
4.2. Fenóis derivatizados.....	44
4.2.1. Otimização das formas de agitação da amostra.....	46
4.2.2. Obtenção das figuras de mérito analítico.....	49
4.2.3. Comparação da eficiência dos métodos de agitação da amostra.....	54
4.3. Uma possível explicação para a eficiência da extração SPME com o novo método de agitação <i>flowthrough</i> segmentado com bolhas de ar.....	58
4.4. Estudos preliminares de uma nova fibra de SPME.....	62
5. Conclusões e perspectivas.....	65
Referências.....	67
Apêndice I.....	71

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 01. Dispositivo básico para SPME, realçando o conjunto da fibra responsável pela extração. Dimensões do recobrimento  $L = 10 \text{ mm}$ ,  $d_f = 7 \mu\text{m}$  a  $100 \mu\text{m}$ .....3
- Figura 02. 1-Processo de extração SPME por amostragem direta e 2-sistema de dessorção para análise por CG.....4
- Figura 03. Duas implementações diferentes da técnica de SPME, a) polímero recoberto sobre a superfície da fibra, b) polímero recoberto sob superfície interna do tubo .....5
- Figura 04. Amostragem em SPME: a) direta; b) 'headspace' e c) membrana.....6
- Figura 05. Capacidade de retenção de analitos de acordo com a polaridade e espessura do recobrimento.....8
- Figura 06. Massa absorvida em função do tempo para uma solução perfeitamente agitada num volume infinito. Este perfil é válido para algumas concentrações de analitos na amostra, e para alguns valores de  $K_{fs}$ ...11
- Figura 07. Configuração do modelo da camada-limite mostrando as diferentes regiões e assumindo a concentração em função do perfil do raio quando a camada-limite determina a velocidade de extração.....12
- Figura 08. Perfil de extração correspondente as seguintes condições: a- condição de agitação perfeita, b- bem agitada e c-mau agitada.....13
- Figura 09. Modelo de amostragem direta por SPME utilizando o método de agitação magnética.....23

Figura 10. Modelo de amostragem por SPME usando o método de agitação ‘flow-through’ .....	24
Figura 11. Modelo de amostragem por SPME usando a cela ‘flow-through’ segmentada com bolhas de ar .....	25
Figura 12. Otimização do tempo de exposição do recobrimento da fibra na porta do injetor do CG, para os quatro fenóis pela fibra recoberta com PA durante o procedimento de SPME: ■ fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-cloro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-nitro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ 2,4-dimetil-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).....	28
Figura 13. Otimização da temperatura do injetor do CG no processo de dessorção térmica dos analitos retidos no recobrimento da fibra SPME, para três fenóis pela fibra recoberta com PA durante o processo de SPME: ■ fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-nitro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ 2,4-dimetil-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) .....	29
Figura 14. Cromatograma típico de separação dos fenóis após extração destes compostos na forma livre por SPME com fibra recoberta com PA ( $85 \mu\text{m}$ ). Temperatura do detector: $280^\circ\text{C}$ ; Temperatura do injetor: $240^\circ\text{C}$ . condição cromatográfica: $80^\circ\text{C}/3\text{min.}$ , $5^\circ\text{C}/\text{min.}$ até $180^\circ\text{C}$ , $20^\circ\text{C}/\text{min.}$ até $280^\circ\text{C}/2\text{min.}$ velocidade do gás arraste: $46 \text{ cm s}^{-1}$ .Tempo de exposição na porta do injetor: 2:30 minutos.....	30
Figura 15. Influência da variação da vazão de $0,6 \text{ mL min}^{-1}$ – $5,5 \text{ mL min}^{-1}$ em função do sinal para cinco fenóis: ■ fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-cloro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-nitro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2,4-dimetil-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ 4-nitro-fenol ( $0,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Condições experimentais: volume da amostra de 10 mL (sistema fechado); método de agitação: ‘flow-	

through'; tempo de exposição: 45 minutos.....32

Figura 16. Variação da espessura da camada-limite,  $\delta$ , em função da velocidade linear do fluido para o fenol, na faixa de  $u = 2,8$  a  $25,7 \text{ cm s}^{-1}$ , correspondente a uma faixa de vazão de  $0,6 \text{ mL min}^{-1}$  a  $5,5 \text{ mL min}^{-1}$  .....33

Figura 17. Influência da variação do sinal em função da vazão de  $0,3 \text{ mL min}^{-1}$  a  $3,3 \text{ mL min}^{-1}$  para cinco fenóis: ■ fenol ( $0,2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-cloro-fenol ( $0,2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-nitro-fenol ( $0,2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2,4-dimetil-fenol ( $0,2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ 4-nitro-fenol ( $0,6 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Condições experimentais: volume da amostra de  $10 \text{ mL}$  (sistema fechado); método de agitação: 'flow-through' segmentado com bolhas de ar; tempo de exposição: 45 minutos.....35

Figura 18. Perfis de extração de cinco fenóis pela fibra recoberta com poliacrilato (PA) durante o procedimento de SPME: ■ fenol ( $0,2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-cloro-fenol ( $0,2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-nitro-fenol ( $0,2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2,4-dimetil-fenol ( $0,2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ 4-nitro-fenol ( $0,6 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Condições experimentais: Volume da amostra:  $10 \text{ mL}$ ; método de agitação: barra magnética.....36

Figura 19. Perfis de extração de cinco fenóis pela fibra recoberta com poliacrilato (PA) durante o procedimento de SPME: ■ fenol ( $0,2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-cloro-fenol ( $0,2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-nitro-fenol ( $0,2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2,4-dimetil-fenol ( $0,2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ 4-nitro-fenol ( $0,6 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Condições experimentais: Volume da amostra:  $10 \text{ mL}$ ; método de agitação: Cella 'flowthrough'; Vazão da amostra  $2,5 \text{ mL min}^{-1}$  .....36



Figura 20. Perfis de extração de quatro fenóis pela fibra recoberta com poliacrilato durante o procedimento de SPME: ■ fenol ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ), ■ 2-nitro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2,4-dimetil-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ 4-nitro-fenol ( $0,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Volume da amostra: 10 mL; método de agitação: Cella *Flow-Through*/segmentada; vazão  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ .....37

Figura 21. Comparação do rendimento da extração SPME de fenóis livres para os diferentes métodos de agitação ■ agitação magnética ■ cela flow-through ■ cela flow-through/segmentada. (1) fenol, (2) 2-cloro-fenol, (3) 2-nitro-fenol, (4) 2,4-dimetil-fenol, (5) 2,4-dicloro-fenol, (6) 4-cloro-3-metil-fenol, (7) 2,4,6-tricloro-fenol e (8) pentacloro-fenol. Condições experimentais: tempo de exposição: 45 min.; volume da amostra: 10 mL; vazão para o método 'flow-through':  $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ ; vazão para o método 'flow-through' segmentado:  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ .....42

Figura 22. Comparação da eficiência da extração SPME para os diferentes métodos de agitação: ■ agitação magnética ■ cela flow-through ■ cela flow-through/segmentada. Condições experimentais: tempo de exposição: 45 min.; volume da amostra: 10 mL; vazão para o método 'flow-through':  $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ ; vazão para o método 'flow-through' segmentado:  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ .....43

Figura 23. Cromatograma típico de separação dos fenóis derivatizados após extração destes compostos na forma livre por SPME com fibra recoberta com PDMS ( $100 \mu\text{m}$ ). Temperatura do detector:  $280 ^\circ\text{C}$ ; Temperatura do injetor:  $240 ^\circ\text{C}$ . condição cromatográfica:  $80 ^\circ\text{C}/3\text{min.}$ ,  $5^\circ\text{C}/\text{min. até } 180 ^\circ\text{C}$ ,  $20 ^\circ\text{C}/\text{min. até } 280 ^\circ\text{C}/2\text{min.}$  velocidade do gás arraste:  $46 \text{ cm s}^{-1}$ .Tempo de exposição na porta do injetor: 3:00 minutos.....45

Figura 24. SPME com uso da cela 'flow-through' e 'flow-thrtough' segmentada com bolhas de ar para extração de fenóis derivatizados com a fibra PDMS num sistema fechado. (A) cela 'flow-through' e (B) 'flow-thrtough' segmentada com bolhas de ar: ■ acetato de fenila ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ acetato de 2-cloro-fenila ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ acetato de 2,4-dimetil-fenila ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).....47

Figura 25. SPME com uso da cela 'flow-through' e 'flow-thrtough' segmentada com bolhas de ar para extração de fenóis derivatizados com a fibra PDMS num sistema aberto com descarte de amostra. (A) cela 'flow-through' e (B) 'flow-thrtough' segmentada com bolhas de ar: ■ acetato de fenila ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ acetato de 2-cloro-fenila ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ acetato de 2,4-dimetil-fenila ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).....47

Figura 26. Influência da variação da vazão de  $0,17 \text{ mL min}^{-1}$  –  $2,5 \text{ mL min}^{-1}$  em função do sinal para três fenóis derivatizados: ■ acetato de fenila ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ acetato de 2-cloro-fenila ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ acetato de 2,4-dimetil-fenila ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Condições experimentais: Volume da amostra de  $0,68 \text{ mL}$  –  $10 \text{ mL}$  (sistema aberto); tempo de exposição:  $4 \text{ min}$ . Método de agitação: (A) cela 'flow-through' e (B) cela 'flow-through' segmentada.....49

Figura 27. Perfis de extração de três fenóis derivatizados durante o procedimento de SPME para a fibra recoberta com polidimetilsiloxano (PDMS): ■ acetato de fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ), ■ acetato de 2-cloro-fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e ■ acetato de 2,4-dimetil-fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ). Condições experimentais: Volume da amostra:  $10 \text{ mL}$ ; método de agitação: barra magnética.....50

Figura 28. Perfis de extração de três fenóis derivatizados durante o procedimento de SPME para a fibra recoberta com polidimetilsiloxano (PDMS):

■ acetato de fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ), ■ acetato de 2-cloro-fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e ■ acetato de 2,4-dimetil-fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ). Condições experimentais: Volume da amostra: sistema aberto; método de agitação: *FlowThrough*; Vazão da amostra  $2,5 \text{ mL.min}^{-1}$  .....50

Figura 29. Perfis de extração de três fenóis derivatizados durante o procedimento de SPME para a fibra recoberta com polidimetilsiloxano (PDMS): ■ acetato de fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ), ■ acetato de 2-cloro-fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e ■ acetato de 2,4-dimetil-fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ). Condições experimentais: Volume da amostra: sistema aberto; método de agitação: Cella *FlowThrough* segmentada com bolhas de ar; vazão da amostra  $1,4 \text{ mL.min}^{-1}$  .....51

Figura 30. Comparação do rendimento da extração SPME de fenóis livres para os diferentes métodos de agitação ■ agitação magnética ■ cela flow-through ■ cela flow-through/segmentada com bolhas de ar. Fenóis (1) acetato de fenila, (2) acetato de 2-cloro-fenila, (3) acetato de 2,4-dimetil-fenila, (4) acetato de 4cloro-3-metil-fenila (5) acetato de 2,4-dicloro-fenila, (6) acetato de 2,4,6-tricloro-fenila e (7) acetato de pentacloro-fenila. Condições experimentais: tempo de exposição: 4 min.; volume da amostra: sistema aberto; vazão para o método 'flow-through':  $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ ; vazão para o método 'flow-through' segmentado:  $1,4 \text{ mL min}^{-1}$  .....54

Figura 31. Comparação do rendimento da extração de SPME de fenóis derivatizados para os diferentes métodos de agitação: ■ agitação magnética ■ cela flow-through ■ cela flow-through/segmentada, para os seguintes analitos; (1) acetato de fenila, (2) acetato de 2-cloro-fenila e (3) acetato de 2,4-dimetil-fenila, Condições experimentais: tempo de exposição: 4 min.; volume da amostra: sistema aberto; vazão para o

método 'flow-through': 2,5 mL min<sup>-1</sup>; vazão para o método 'flow-through' segmentado: 1,4 mL min<sup>-1</sup> .....55

Figura 32. Comparação da eficiência da extração SPME para os diferentes métodos de agitação: ■ agitação magnética ■ cela flow-through ■ cela flow-through/segmentada com bolhas de ar para os seguintes analitos; composto (1) acetato de fenila, (2) acetato de 2-cloro-fenila e (3) acetato de 2,4-dimetil-fenila. Condições experimentais: volume da amostra: sistema aberto; vazão para o método 'flow-through': 2,5 mL min<sup>-1</sup>; vazão para o método 'flow-through' segmentado com bolhas de ar: 1,4 mL min<sup>-1</sup> .....56

Figura 33. Perfis genéricos de concentração em função da distância com relação ao centro da fibra em diferentes tempos de exposição da fibra SPME à solução contendo um dado analito. Parâmetros utilizados: espessura do recobrimento: 100 µm; L= 1 cm; D<sub>s</sub>= 1,08x10<sup>-5</sup> cm<sup>2</sup>s<sup>-1</sup>; D<sub>f</sub>=2,8x10<sup>-6</sup> cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>; K<sub>fs</sub>=5.....58

Figura 34. Etapas de extração de analitos por SPME com método de agitação 'flow-through' segmentada com bolhas de ar. Para melhor visualização do processo, a segmentação amostra/ar é representada pelas cores amarela (amostra) e branca (ar), e a fibra é representada pelo bastão vermelho.....60

Figura 35. Esquerda: Cromatogram obtido após exposição da nova fibra a uma série de compostos apolares: (1) 3-metil-pentano, (2) tolueno, (3) m-xileno, (4) naftaleno, (6) benzeno, (7) etil-benzeno, (8) o-xileno, (9) 1,2,4-trimetil-benzeno, iso-octano. Direita: Cromatogram típico de separação da série de compostos apolares pela injeção de 1 µL de solução padrão. .... 62

Figura 36. Perfis de extração dos dois fenóis durante o procedimento de SPME estático em fase gasosa para fibra recoberta com óxido de nióbio ■ fenol ( $0,06 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e ■ 2,4-dimetil-fenol ( $0,06 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ). Condições experimentais: Volume da amostra: 8,2 mL.....63

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Fibras recobertas disponíveis comercialmente para uso de SPME.....	8
Tabela 02. Métodos de agitação em SPME.....	15
Tabela 03. Novas fibras para micro-extração em fase sólida de diversos poluentes orgânicos.....	18
Tabela 04. Figuras de mérito para oito fenóis extraídos por SPME com agitação magnética.....	39
Tabela 05. Figuras de mérito para sete fenóis extraídos por SPME usando a cela “flow-through” .....	39
Tabela 06. Figuras de mérito para oito fenóis extraídos por SPME usando a cela “flow-through” segmentada com bolhas de ar.....	40
Tabela 07. Figuras de mérito para três fenóis derivatizados extraídos por SPME com agitação magnética.....	52
Tabela 08. Figuras de mérito para sete fenóis extraídos por SPME usando a cela “flow-through” .....	53
Tabela 09. Figuras de mérito para três fenóis derivatizados extraídos por SPME usando a cela “flow-through” segmentada com bolhas de ar.....	53
Tabela 10. Figuras de mérito para dois fenóis extraídos por SPME estático em fase gasosa”.....	64

## RESUMO

Neste trabalho, realizou-se um estudo de micro-extração em fase sólida (SPME) com fibras recobertas por poliacrilato (PA) e polidimetilsiloxano (PDMS) para extração de fenóis livres e derivatizados, respectivamente. Três métodos de agitação foram investigados: agitação com barra magnética (1), agitação com cela "flow-through" (2) e um novo método de agitação proposto o qual utiliza uma cela "flow-through" segmentada com bolhas de ar (3). A análise dos compostos extraídos foi feita com um cromatógrafo a gás equipado com detector por ionização em chama (FID). O desvio padrão relativo (RSD) e o limite de detecção (LD) para cada método referente à análise de fenóis livres foram: (1) 3,1- 22,0% e 0,027-0,48  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ; (2) 4,0-11,6% e 0,003-0,010  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e (3) 3-14% e 0,009-0,08  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . A curva de calibração resultou na mesma faixa linear de trabalho para os três métodos: 0,1-1,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Por outro lado, as figuras de mérito para cada método referentes à análise de fenóis derivatizados foram: (1) 0,8-4,8% 0,2-0,3  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; (2) 5,7-7,5 e 0,03-0,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  e (3) 2,1-5,8 e 0,06-2,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . A curva de calibração resultou na mesma faixa linear de trabalho para os três métodos: 0,001-0,05  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Também foram obtidos perfis de extração com cada método de agitação e realizou-se a otimização da vazão de amostra para os métodos em fluxo (2 e 3). As vazões ótimas encontradas foram: (2) 2,5  $\text{mL min}^{-1}$  e (3) 2,0  $\text{mL min}^{-1}$ , para fenóis livres; e (2) 2,5  $\text{mL min}^{-1}$  e (3) 1,4  $\text{mL min}^{-1}$ , para fenóis derivatizados. A comparação dos perfis de extração revela que o novo método de agitação, "flow-through" segmentado, apresentou tempo de equilíbrio menor do que os observados para os métodos convencionais, independentemente do analito em estudo. Como resultado, concluiu-se que o novo método de agitação leva a uma extração SPME mais eficiente. Propõe-se uma explicação para a eficiência do novo método, baseada na maximização do gradiente de concentração na camada-limite e, conseqüentemente, do fluxo de analito da solução em direção à fibra. O desenvolvimento de uma nova fibra recoberta com óxido de nióbio é apresentado, indicando resultados promissores para a extração de analitos polares como os fenóis livres.

## ABSTRACT

In this work, we accomplished a solid-phase microextraction (SPME) study with polyacrilate (PA) and poly(dimethylsiloxane) (PDMS) fibres for free and derivatized phenols extraction, respectively. Three stirring methods were investigated: magnetic bar stirring (1) flow-through cell agitation (2) and flow-through cell segmented with air bubbles, developed by us as a new method (3). A gas chromatograph equipped with FID was used for analyses. Relative standard deviation (RSD) and limit of detection (LD) for each method during free phenol were found to be: (1) 3,1- 22,0% and 0,027-0,48  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ; (2) 4,0-11,6% and 0,003-0,010  $\mu\text{g mL}^{-1}$  and (3) 3-14% and 0,009-0,08  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . The calibration curve resulted in the same linear working range for all methods: from 0,1 to 1,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . On the other hand, analytical figures relative to derivatized phenols were: (1) 0,8-4,8% and 0,2-0,3  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; (2) 5,7-7,5% and 0,03-0,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  and (3) 2,1-5,8% and 0,06-2,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . The calibration curve resulted in the same linear working range for all methods: from 0,001 to 0,05  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . We also obtained extraction profiles to each stirring method and flow optimization was performed for both flow-methods of stirring (2 and 3). Optimum flow were: (2) 2,5  $\text{mL min}^{-1}$  and (3) 2,0  $\text{mL min}^{-1}$ , for free phenols; (2) 2,5  $\text{mL min}^{-1}$  and (3) 1,4  $\text{mL min}^{-1}$ , for derivatized phenols. Comparison of extraction profiles revealed that the new stirring method showed equilibrium times lower than those found for conventional methods, regardless of the type of compound. As a result, it was concluded that the new stirring method leads to a more efficient SPME extraction. A possible explanation for the efficiency of the new method is presented based on concentration gradient optimization on the boundary-layer. Finally, we also show the development of a new niobium oxide SPME fiber coating as well as preliminary results of phenol extraction with this new coating. The results obtained so far suggest that this coating present good selectivity towards polar analytes.



## 1. INTRODUÇÃO

Os enormes avanços observados na área de *análise* de microcomponentes orgânicos nas últimas décadas refletem-se diretamente nos desenvolvimentos em análise instrumental. Infelizmente, os métodos de *preparação de amostras* têm ficado para trás devido à lentidão com que agências regulatórias mudam os procedimentos analíticos estabelecidos<sup>1</sup>. Assim sendo, apesar dos avanços nas técnicas de *separação* e *quantificação* de analitos, muitos procedimentos de *amostragem* e *preparação* de amostras são baseados em tecnologias clássicas como, por exemplo, o método de extração Soxhlet<sup>2</sup>. A extração de compostos orgânicos ainda é normalmente realizada com solventes orgânicos, tanto para amostras líquidas (extração líquido-líquido ou LLE) como para amostras sólidas (extração Soxhlet, extração ultrassônica). Geralmente, a análise é de microcomponentes e, como resultado, tem-se que procedimentos de extração clássicos consistem de várias etapas, resultando em maior perda de analitos, maior possibilidade de contaminação da amostra e maiores tempos de preparação de amostras. Além disso, muitos dos solventes orgânicos utilizados são de alta pureza e, conseqüentemente, de alto custo. Finalmente, é importante ressaltar que tais solventes também são tóxicos e carcinogênicos.

Esta série de desvantagens dos métodos de extração convencionais tem levado ao desenvolvimento de novas técnicas de amostragem e preparação de amostras, cujas principais vantagens são rapidez e uso de pequenos volumes de solvente. Métodos de extração usando pouco ou nenhum solvente orgânico podem ser divididos em três grupos, de acordo com o meio de extração: (a) extração em fase gasosa; (b) extração com membranas e (c) extração com sorventes.

Extrações em fase gasosa incluem técnicas de “headspace” estático, os quais usam o equilíbrio existente entre a fase gasosa e a amostra, e métodos de “headspace” dinâmicos ou “purga & trap”, onde é borbulhado um gás dentro da amostra para purgar componentes voláteis que são, subseqüentemente, analisados. Uma das variantes desta técnica é a extração com fluido supercrítico, a qual permite a separação de compostos menos voláteis em amostras sólidas<sup>3</sup>.

As principais desvantagens para o sistema de extração com fluido supercrítico são a complexidade do equipamento e o seu elevado custo. A principal desvantagem do sistema de extração “headspace” estático é a sua baixa sensibilidade.

Por outro lado, as técnicas de extração com membranas usam membranas poliméricas para extrair analitos da amostra. O método é efetivo para analitos voláteis, os quais são dessorvidos pela passagem de gás através da membrana, mas não são adequados para analitos mais polares por causa da falta de membranas específicas.

As técnicas de extração com sorventes envolvem a extração em fase sólida (SPE) e a micro-extração em fase sólida (SPME). A SPE é um método já estabelecido, no qual uma amostra líquida passa através de um sorvente específico similar às fases estacionárias usadas em HPLC aonde os analitos são retidos<sup>4,5</sup>. A SPE pode ser usada para extrair compostos hidrofóbicos e hidrofílicos, o que é uma vantagem sobre a LLE. Os sorventes têm alta capacidade de sorção e estão disponíveis na forma de cartuchos ou discos de extração. A abordagem mais útil é usar a SPE num procedimento não-automatizado (“off-line”), no qual os analitos são dessorvidos com um pequeno volume de solvente orgânico e uma alíquota do extrato final é subsequente analisada<sup>6</sup>. A SPME, desenvolvida por Janusz Pawliszyn e Arthur no final da década de 80, é uma técnica relativamente recente de extrações com sorventes<sup>7</sup>. Ela elimina completamente o uso de solventes orgânicos e tem a vantagem de ser rápida e simples. O princípio da técnica é a partição do analito entre a amostra matriz e um microcomponente extrator, o qual consiste de uma fase polimérica líquida ou sólida que recobre uma fibra de sílica fundida. Devido à fragilidade destas fibras extratoras, elas são retraídas para dentro de um tubo hipodérmico durante as operações que possam danificá-las. O dispositivo básico de micro-extração em fase sólida (SPME) consiste de um bastão de fibra ótica de sílica fundida de 100 mm de comprimento, sendo que os últimos 10 mm de uma das extremidades são recobertos com um fino filme polimérico. A Figura 01 ilustra uma fibra comercial com recobrimento, ou filme extrator. As espessuras dos recobrimentos,  $d_f$ , de fibras comerciais variam de 7  $\mu\text{m}$  a 100  $\mu\text{m}$  e seus volumes

de 0,03  $\mu\text{L}$  a 0,7  $\mu\text{L}$ <sup>8</sup>. Quando se realiza a amostragem num frasco, o êmbolo é puxado para cima, protegendo a fibra para dentro da agulha. Assim que a agulha fura o septo de borracha, o êmbolo é empurrado para baixo, expondo a fibra à amostra. O analito extraído pelo recobrimento da fibra é então dessorvido e analisado por um instrumento analítico em condições ótimas de trabalho.

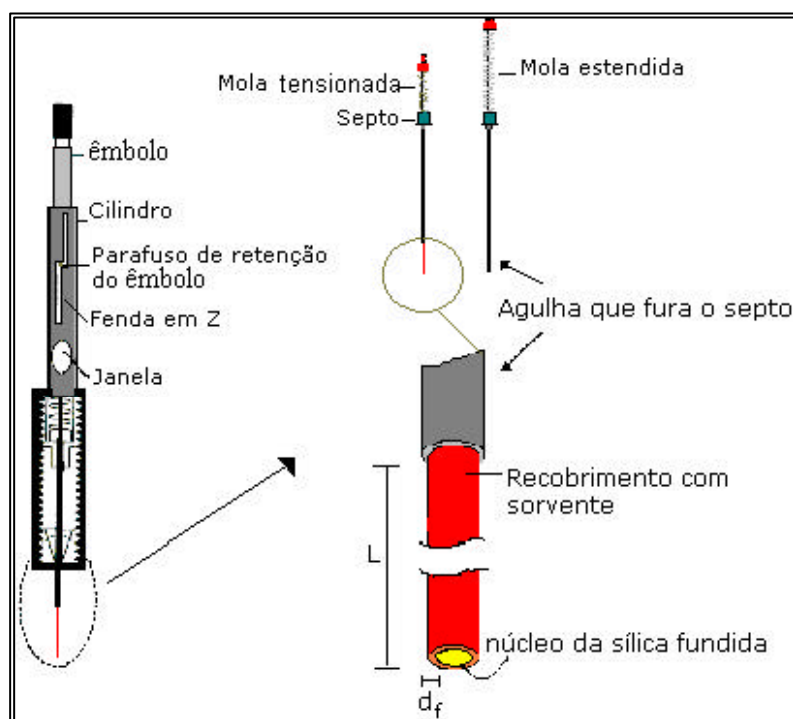


Figura 01. Dispositivo básico para SPME, realçando o conjunto da fibra responsável pela extração. Dimensões do recobrimento  $L = 10 \text{ mm}$ ,  $d_f = 7 \text{ }\mu\text{m}$  a  $100 \text{ }\mu\text{m}$ .

### 1.1. Princípios básicos da SPME

O procedimento da SPME, ilustrado na Figura 02, é dado em duas etapas: sorção e dessorção dos analitos. Na etapa de sorção, os analitos de interesse são extraídos da amostra matriz pela exposição do recobrimento da fibra de sílica fundida à amostra por um certo tempo pré-determinado. Após a etapa de sorção, a fibra é removida da amostra e os analitos retidos são, em seguida, dessorvidos em um instrumento analítico apropriado (CG, HPLC, etc.) para ser separado e quantificado.

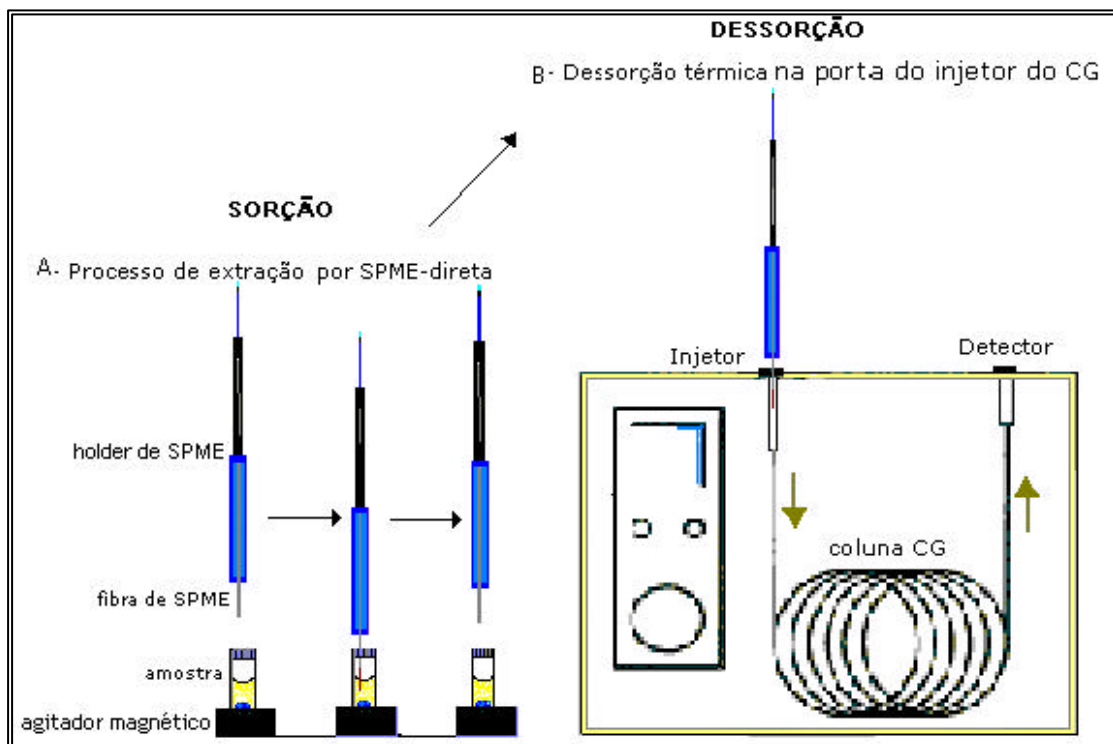


Figura 02. A-Processo de extração SPME por amostragem direta e B-sistema de dessorção para análise por CG.

Até o presente, duas implementações da técnica SPME foram extensivamente estudadas e estão ilustradas na Figura 03<sup>9</sup>. Numa delas, a fase extratora assemelha-se a um tubo, enquanto que na outra esta fase extratora recobre uma haste de sílica fundida. O projeto em tubo é similar ao arranjo da SPE, apesar da diferença de volume da fase extratora (Figura 03b). Por outro lado, o método mais tradicional de SPME envolve o uso de fibras de sílica fundida recobertas com líquidos ou sólidos poliméricos como, por exemplo, polidimetilsiloxano (PDMS) e poliácrlato (PA), os quais otimizam a capacidade de sorção de analitos por parte da fibra (Figura 03a).

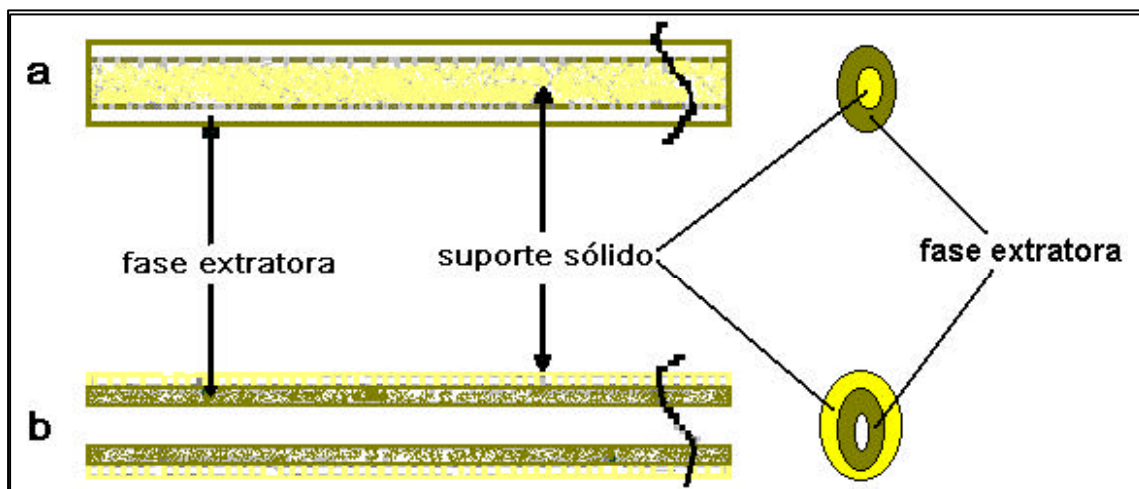


Figura 03. Duas implementações diferentes da técnica de SPME: a) polímero recoberto sobre a superfície da fibra e b) polímero recoberto sob superfície interna do tubo.

O transporte dos analitos da matriz até este recobrimento inicia-se assim que a fibra recoberta é colocada em contato com a amostra (Figura 02-1). Em geral, considera-se a extração completa quando a concentração de analito atinge o valor correspondente ao seu equilíbrio de partição entre a amostra matriz e o recobrimento da fibra. Na prática, isto quer dizer que, uma vez alcançado o equilíbrio, a quantidade extraída é constante dentro dos limites de erro experimental e é independente de posterior aumento no tempo de extração. As condições de equilíbrio podem ser descritas pela (equação 1)<sup>10</sup>.

$$n = \frac{K_{fs} \cdot V_f \cdot V_s \cdot C_0}{K_{fs} \cdot V_f + V_s} \quad (\text{equação 1})$$

onde  $n$  é o número de mols do analito extraídos pelo recobrimento,  $K_{fs}$  a constante de partição entre o recobrimento da fibra e a matriz da amostra,  $V_f$  o volume do recobrimento da fibra,  $V_s$  o volume da amostra e  $C_0$  a concentração inicial de um dado analito na amostra.

A equação acima pode ser simplificada quando se estudam sistemas em que o volume da amostra é muito maior do que o da fibra ( $V_s \gg V_f$ ). Nestes casos, a equação resultante é:

$$n = K_{fs} \cdot V_f \cdot C_o \quad (\text{equação 2})$$

Uma consequência muito importante desta simplificação é o fato de que a quantidade de analito extraída é independente do volume da amostra durante a amostragem realizado no campo. Assim sendo, a etapa de amostragem na SPME pode ser estudada e otimizada, nunca comprometendo a sensibilidade deste método.

Até o presente, SPME tem sido aplicada para extrair compostos orgânicos de diferentes matrizes incluindo ar<sup>11</sup>, água<sup>12</sup> e solos<sup>13</sup>.

A amostragem em SPME pode ser conduzida de três modos: (a) direta na matriz da amostra; (b) no “headspace” da amostra (HS) e (c) por membrana, conforme ilustrado na Figura 04.

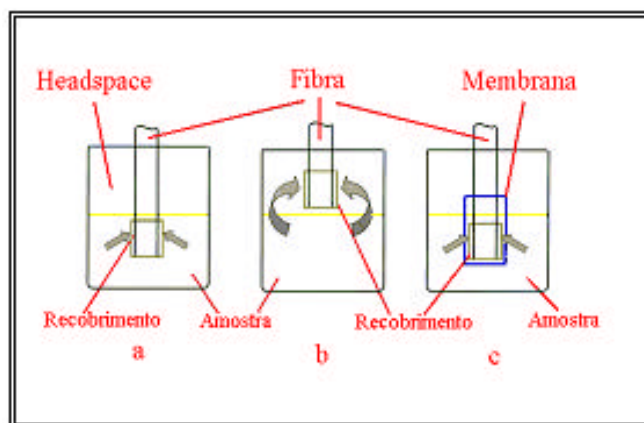


Figura 04. Amostragem em SPME: a) direta; b) “headspace” e c) membrana<sup>14</sup>.

Na amostragem direta (Figura 04a), a fibra é imersa diretamente na amostra líquida ou gasosa, podendo ser aplicada para análise de gases e de amostras líquidas relativamente limpas. Por outro lado, na SPME-HS (Figura 04b), a fibra é suspensa na região que se situa sobre a matriz da amostra. Este método é melhor para a amostragem de sólidos e líquidos com um número maior de impurezas, desde que os analitos sejam voláteis. O principal objetivo da barreira formada com membrana (Figura 04c) é proteger a fibra contra danificações, de modo similar ao uso de SPME-HS, quando são analisadas amostras muito sujas. Além disso, a proteção com membranas é vantajosa para determinação de

analitos que têm volatilidades baixas demais para o uso da abordagem HS. No entanto, a cinética de extração com membranas é substancialmente maior do que a extração direta, pois os analitos precisam difundir através da membrana antes de atingir o recobrimento da fibra.

### **1.2. Parâmetros que afetam a eficiência da extração SPME**

A quantidade de analito extraída pela fibra na SPME é descrita pela equação 1, mas pode ser afetada por vários parâmetros como, por exemplo, as características do recobrimento, tempo e temperatura do processo de extração, adição de sal ou solvente orgânico à amostra, modificação do pH, agitação, volume da amostra, etc<sup>14</sup>.

Faremos aqui apenas uma breve exposição destes parâmetros, ressaltando os princípios responsáveis por sua influência na eficiência de extração por SPME.

A escolha do recobrimento mais adequado é muito importante para a obtenção de boa seletividade para os analitos de interesse. O princípio de que “semelhante dissolve semelhante” pode ser aplicado à seleção da fibra conforme as propriedades do analito em estudo. Desta forma, poliacrilato, o qual tem um recobrimento mais hidrofílico, facilita a extração SPME de analitos polares tais como: fenóis, pesticidas organofosforados e herbicidas contendo o grupo nitro. Por outro lado, recobrimentos de baixa polaridade, como o polidimetilsiloxano, mostram excelente seletividade para compostos apolares ou pouco polares como, por exemplo, a série de compostos BTEX (benzeno, tolueno, etil benzeno e xilenos), HPA (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), PCB (bifenenila policlorados) e fenóis derivatizados com o grupo acetato (ver Figura 05 e tabela 01 abaixo).

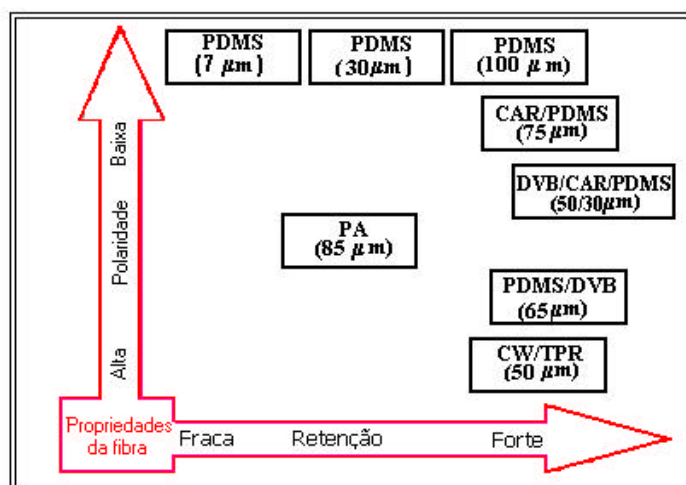


Figura 05. Capacidade de retenção de analitos de acordo com a polaridade e espessura do revestimento.

Tabela 01. Fibras recobertas disponíveis comercialmente para uso de SPME.

Fibras Recoberta	Filme <sup>a</sup>	Uso <sup>b</sup>	Aplicação
Polidimetilsiloxano (PDMS)	100 µm	CG-HPLC	Compostos orgânicos poucos polares, ex: COV, HPA e BTEX
	30 µm	CG-HPLC	
	7 µm	CG-HPLC	
Poliacrilato (PA)	85 µm	CG-HPLC	Compostos orgânicos polares, ex: triazinas e fenóis
Polidimetilsiloxano-divinilbenzeno (PDMS-DVB)	65 µm	CG	Hidrocarbonetos aromáticos e pouco voláteis, ex: análise de ar.
	60 µm	HPLC	
Carboxen-polidimetilsiloxano (Carboxen-PDMS)	75 µm	CG	COV e hidrocarbonetos
Carbowax- divinilbenzeno (CW-DVB)	65 µm	CG	Compostos orgânicos polares ex: álcoois
Carbowax-(CW-TPR)	50 µm	HPLC	Surfactantes aniônicos.

a= espessura do filme, b= uso recomendado para Cromatografia Gasosa <sup>14</sup>.

A temperatura da extração tem dois efeitos opostos sobre o processo de SPME.

Um aumento na temperatura durante a extração aumenta a difusão dos analitos em direção à fibra. Por outro lado, este aumento na



temperatura reduz a constante de distribuição dos analitos, pois a etapa de absorção é um processo exotérmico.

Uma maneira de aumentar a quantidade de alguns analitos retidos no recobrimento da fibra é o ajuste do pH. O pH da amostra pode ser alterado para valores que aumentem a quantidade de analito na forma neutra durante a extração de analitos ácidos ou básicos, tais como fenóis e aminas.

Muitos estudos têm mostrado que a adição de sal, cloreto de sódio na maioria dos casos, também aumenta a retenção dos analitos no recobrimento da fibra. A adição de sal pode frequentemente aumentar a recuperação quando métodos de extração são utilizados. Este comportamento pode ser explicado em termos da solvatação dos analitos. Inicialmente a recuperação dos analitos é aumentada devido ao efeito “salting out”, pelo qual as moléculas de água formam esferas de hidratação ao redor dos íons do sal. Estas esferas de hidratação reduzem a concentração de água disponível para dissolver moléculas de analito, levando ao deslocamento dos analitos para fase extratora<sup>15</sup>.

Outro parâmetro importante a ser otimizado em SPME é o volume da amostra, uma vez que isto está diretamente relacionado à sensibilidade do método. O volume da amostra é, em geral, muito maior que o volume da fibra. Pela equação 2 da seção 1.1, isto significa que a quantidade de analito extraído é independente do volume da amostra, quando o volume da amostra é infinitamente maior comparado com volume da fibra, sendo proporcional apenas ao coeficiente de partição, à concentração da amostra e ao volume da fibra.

### **1.3. Seleção da técnica de agitação e cinética do processo de SPME**

Uma vez que a SPME é baseada num processo de distribuição no equilíbrio, a quantidade máxima de analito será extraída no tempo de equilíbrio. Por sua vez, o tempo de equilíbrio de partição depende do modo com que a SPME é utilizada. A extração via SPME com a amostra mantida em condição estática requer longos tempos de exposição, enquanto que tempos de equilíbrio relativamente curtos são alcançados quando a amostra aquosa está sujeita à agitação, no caso de SPME direto. A argumentação também é válida para SPME -

HS. Em outras palavras, a agitação da amostra diminui o tempo necessário para atingir o equilíbrio, pois ela aumenta a difusão dos analitos em direção à fibra.

A discussão acima mostra que a cinética do processo de extração determina a rapidez das extrações. Tal comportamento observado empiricamente pode ser explicado, em princípio, a partir da teoria que descreve o transporte dos analitos até a fibra. Além disso, como o objetivo principal da SPME (e de todos os outros procedimentos de preparo de amostras) é realizar extrações do modo mais rápido possível, o conhecimento desta teoria pode sugerir modos de melhorar a eficiência da extração em SPME.

A teoria do transporte de massa em SPME é baseada na Segunda Lei de Fick da Difusão que descreve o balanço de massa num sistema dinâmico<sup>16</sup>. Para um sistema unidimensional, isto pode ser expresso através da equação 3.

$$\frac{\delta C}{\delta t} = D \frac{\delta^2 C}{\delta x^2} \quad (\text{equação 3})$$

onde C é a concentração e D é o coeficiente de difusão do analito.

A aplicação desta teoria ao processo de SPME permite explicar a cinética de extração para esta técnica nas diversas condições de extração (direta, HS, membrana), bem como em diferentes velocidades de agitação da amostra (perfeita, real e estática).

Na extração direta considera-se que a fibra SPME contendo uma fase polimérica líquida é imersa numa solução aquosa homogênea (Figura 02-1). Aqui, há três casos a considerar, conforme o grau de agitação do sistema: agitação perfeita (ideal); agitação real; e sem agitação (estático).

Na agitação perfeita considera-se que a fase aquosa move-se muito rapidamente com relação à fibra, de forma que todos os analitos presentes na solução tenham acesso instantâneo ao recobrimento da fibra. Neste caso, há um rápido aumento na quantidade de analito sorvido pela fibra assim que esta entra em contato com a solução. Em seguida, a taxa de aumento da quantidade de analito sorvido pela fibra diminui com o tempo até, eventualmente, atingir o valor correspondente ao equilíbrio de partição (Figura 06).

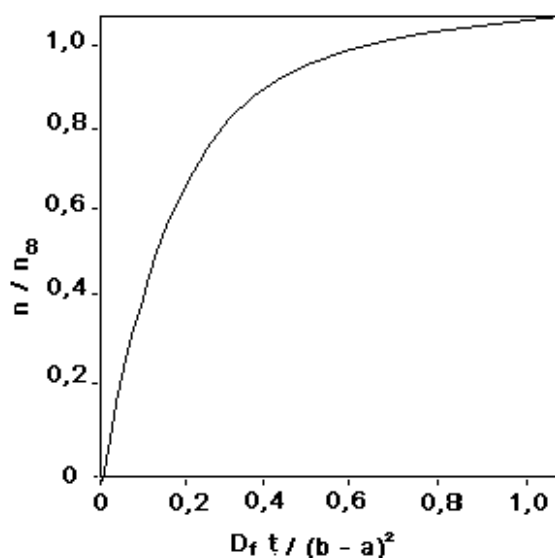


Figura 06. Massa absorvida em função do tempo para uma solução perfeitamente agitada num volume infinito. Este perfil é válido para algumas concentrações de analitos na amostra, e para alguns valores de  $K_{fs}$ .

Como observado na Figura 06, o tempo necessário para que o equilíbrio seja alcançado é infinitamente longo. No entanto, na prática uma variação na massa extraída não será detectada se esta for menor do que o erro experimental que é, em geral, de 5%. Logo, assume-se que o tempo de equilíbrio é alcançado quando se chega a 95% do valor referente à quantidade extraída de analito, conforme equação 4:

$$t_e = t_{95\%} = \frac{d^2}{2D_f} \quad (\text{equação 4})$$

onde  $d$  é a espessura do recobrimento;  $D_f$  o coeficiente de difusão do analito na fibra.

Na agitação real, o fluido em contato com a superfície da fibra sempre será estacionário, independentemente do nível de agitação. À medida que a distância com relação à superfície da fibra aumenta, o movimento do fluido aumenta gradualmente até chegar ao valor correspondente ao fluxo no seio da solução. Para modelar o transporte de massa nestas condições, o gradiente de movimento do fluido e a convecção das moléculas na região ao redor da superfície da fibra podem ser simplificados. Considera-se que há uma camada de espessura definida na qual não ocorre convecção e, após esta camada (no seio da solução), o movimento do fluido é similar a situação de agitação perfeita. A região de camada estática é também chamada de camada-limite de Schmidt (Figura 07). A espessura desta camada é determinada pelas condições de agitação, pela viscosidade do fluido e pelo coeficiente de difusão do analito em solução.

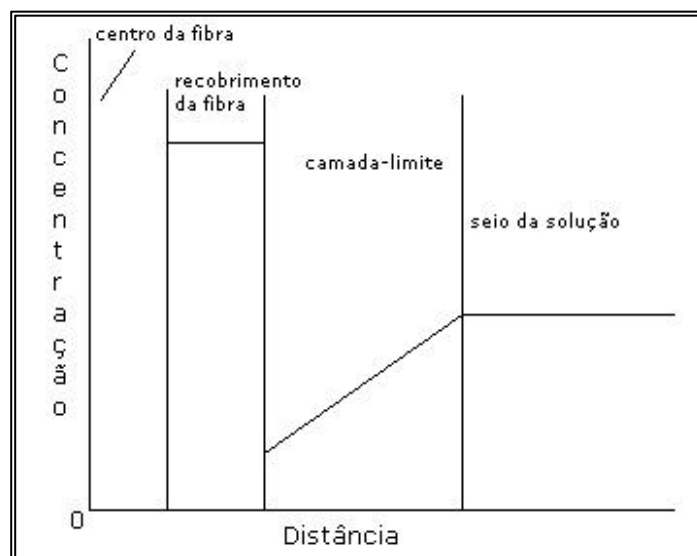


Figura 07. Configuração do modelo da camada-limite mostrando as diferentes regiões consideradas. O perfil de concentração em função da distância com relação ao centro da fibra é válido quando a camada-limite determina a velocidade de extração.

A aplicação deste modelo revela que a espessura da camada-limite é um dos fatores determinantes da eficiência da extração por SPME. Por exemplo, considerando duas soluções com agitações diferenciadas, observa-se que a solução bem agitada apresentará uma menor camada-limite ( $\delta$ ) entre a fibra e a solução. Por outro lado, a solução mal agitada terá um  $\delta$  maior. Desta forma, o gráfico comparativo de perfis de extração para soluções com níveis diferentes de agitação mostra claramente que o tempo de equilíbrio será muito maior para soluções mal agitadas, conforme ilustrado na Figura 08.

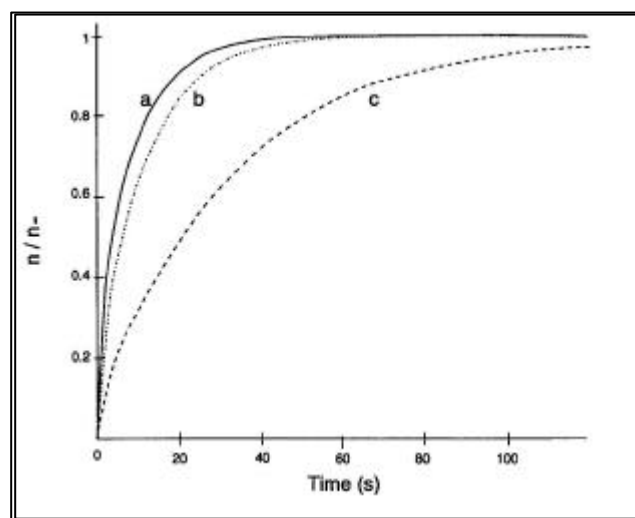


Figura 08: Perfil de extração correspondente as seguintes condições: a-condição de agitação perfeita, b-bem agitada(real) e c-sem agitação(estática).

Com relação à espessura efetiva da camada-limite, ela pode ser estimada a partir de equações empíricas da mecânica dos fluidos<sup>17</sup>. No caso em que o fluxo de solução é axialmente simétrico com relação à fibra, pode-se aplicar a equação para camada-limite numa placa plana, desde de que a espessura da camada ( $\delta$ ) seja pequena quando comparada com o raio da fibra recoberta. A camada-limite efetiva poderá, então, ser descrita pela equação 5:

$$\delta = \frac{2.65 \cdot b}{Sc^{0,43} \cdot Re^{0,50}} \quad (\text{equação 5})$$

onde:

b: espessura do recobrimento da fibra;

Sc: número de Schmitd, dado por  $Sc = v.D^{-1}$  (v: viscosidade cinemática da água =  $0,009 \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$ ; D: coeficiente de difusão do analito em água);

Re: número de Reynolds, dado por  $2ub.v^{-1}$  (a fórmula 05 aplica-se para fluxo laminar com  $Re < 10$ ).

Portanto, um dos fatores limitantes da eficiência da SPME é a formação desta camada estática ao redor da superfície do recobrimento da fibra extratora. Quando a fibra é colocada em contato direto com a solução da amostra, esta camada atua como uma espécie de barreira à passagem de analito, retardando o tempo de equilíbrio bem como o processo de extração.

A busca por novos métodos de agitação visa a minimização destes efeitos e, conseqüentemente, da espessura da camada estática. A eficiência da técnica de agitação selecionada ou desenvolvida irá, por sua vez, determinar os tempos de equilíbrio de amostras aquosas. A tabela 02 resume as propriedades de vários métodos de agitação testados com SPME.

A tabela 02 indica a necessidade de desenvolvimento de novos métodos de agitação, os quais corrijam as desvantagens dos métodos atuais, além de manter a eficiência da extração. O presente trabalho está centrado nesta idéia e na possibilidade de contribuir para a realização de análises por SPME mais eficientes sem, contudo, comprometer a sensibilidade do método.

Tabela 02. Métodos de agitação em SPME <sup>1</sup>.

Método	Vantagens	Desvantagens
Estático (sem agitação)	Simples, funciona bem para amostras gasosas	Limitado a analitos voláteis e SPME 'headspace'
Agitação com barra magnética	Equipamento comum, boa performance	Requer barra magnética no frasco
Agitação intrusiva	Performance muito boa	É difícil selar a amostra
Vórtex/ frasco móvel	Performance boa, sem necessidade de barra magnética no frasco	Tensão na agulha e na fibra
Movimento da fibra	Performance boa, sem necessidade de barra magnética no frasco	Tensão na agulha e na fibra; limitado a pequenos volumes
Fluxo contínuo	Agitação boa em fluxos rápidos	Risco de contaminação cruzada; requer fluxo constante
Sonicação	Tempos de extração muito pequenos	Ruído, aquece a amostra

#### 1.4. Aplicação da SPME para análise de fenóis em amostras ambientais

Fenóis e fenóis substituídos (cloro- e metil-fenóis) são muito estudados pois eles são freqüentemente encontrados em águas de torneira e superficiais.

Descargas de efluentes industriais – indústrias de papel, polpa, pesticidas, etc. – são as principais fontes destes compostos<sup>18</sup>.

Por exemplo, Eisert e Levsen<sup>19</sup> relatam a análise e monitoramento de fenóis em águas poluídas de amostras reais, enquanto que Baciocchi et al<sup>20</sup> descrevem a determinação rápida de fenóis em solos contaminados.

Devido a sua toxicidade, bem como seus efeitos adversos sobre a biota e os humanos, a União Européia, a Organização Mundial da Saúde e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos regulamentaram

os níveis máximos permissíveis de fenóis em águas superficiais, e potáveis, listando os compostos mais tóxicos e persistentes. Além disso, criou-se em 1996 uma nova Diretiva indicando a necessidade de monitorar efluentes industriais, os quais representam uma matriz muito mais complexa do que amostras superficiais. Amostras de efluentes industriais são caracterizadas, entre outros atributos, pelo alto conteúdo em carbono orgânico total (TOC) (de 20 a 1000 mg C L<sup>-1</sup> ou mais, sendo que níveis em águas superficiais vão de 1 a 10 mg C L<sup>-1</sup>) e pela presença de grande quantidade de partículas. O apêndice I apresenta uma breve descrição dos fenóis livres considerados poluentes prioritários pela EPA e estudados neste trabalho.

### **1.5. Derivatização e SPME**

Um dos principais problemas relacionados à análise de fenóis livres por SPME é a elevada polaridade destes compostos. Como consequência, observam-se baixos coeficientes de partição recobrimento/água ou recobrimento/gás (mesmo para recobrimentos polares) e baixa volatilidade (resultando numa baixa resolução cromatográfica)<sup>14</sup>. Além disso, há o problema do comprometimento de equipamentos de cromatografia gasosa quando se analisam compostos com elevada polaridade e/ou acidez.

A derivatização de fenóis consiste da reação destes compostos com anidrido acético para formar acetatos fenólicos, e tem a vantagem de converter analitos polares em seus análogos menos polares, aumentando assim os coeficientes de partição com fibras pouco polares como polidimetilsiloxano. Como resultado, geralmente observa-se uma melhora da eficiência e da sensibilidade do método de SPME quando combinado com a técnica de derivatização.

A combinação de derivatização com SPME pode ser realizada de três modos: derivatização direta na amostra matriz, derivatização no recobrimento da fibra e derivatização na porta do injetor.

A primeira abordagem é a derivatização direta na amostra matriz, seguida da extração dos derivatizados por SPME. Isto tem sido utilizado, por



exemplo, na determinação de fenóis através de sua transformação nos correspondentes derivados acetatos antes de realizar a SPME.

Derivatização no recobrimento da fibra pode ser alcançada em dois momentos:

derivatização e extração simultânea, e derivatização após a extração.

No primeiro caso, a fibra contendo o reagente derivatizante é exposta à amostra contendo os analitos. Esta abordagem é muito interessante porque pode ser aplicada em análise de campo. No segundo caso, os analitos são extraídos pela fibra e então expostos a um reagente derivatizante. A derivatização na porta do injetor é realizada quando a derivatização dos analitos pode ocorrer a altas temperaturas. Por exemplo, Pawliszyn e colaboradores<sup>21</sup>, usaram esta abordagem para determinação de ácidos carboxílicos de cadeia longa em amostras de água.

#### **1.6. Desenvolvimento de novas fibras: outra alternativa para análise de fenóis por SPME**

Outra estratégia possível para a extração de compostos polares, como os fenóis, é o desenvolvimento de novos tipos de fibras capazes de sorver compostos polares. Esta possibilidade expande o desenvolvimento da técnica de micro-extração em fase sólida, bem como seu campo de aplicação (Tabela 3). Além disso, a busca por novas fibras pode levar a um aumento na própria seletividade da SPME.

Tabela 3. Novas fibras para micro-extração em fase sólida de diversos poluentes orgânicos.

Composição da fibra	Amostra	Analito	Ref.
Alumínio anodizado	gasosa	BTEX, álcoois alifáticos e produtos de petróleo	22
Polímero hexafluoro-bis- fenólico	gasosa	Sarin	23
Polietileno glicol	gasosa	BTEX, fenóis, di-ésteres de ftalato,	24

---

		pesticidas, etc.	
Poliimida	aquosa	PHA, alcanos, derivados de anilina,	25
		álcoois e fenóis	
Carboxen-PDMS	aquosa	Etanol em fluidos sanguíneos	26

---

O presente trabalho também visou a possibilidade de contribuir para o campo da análise de compostos polares através do desenvolvimento de uma nova fibra para SPME. No entanto, é importante ressaltar que, neste estudo, tanto a preparação e caracterização da nova fibra como os resultados obtidos durante a extração SPME de fenóis ainda são preliminares e não representam o estudo da aplicabilidade da nova fibra em sua totalidade.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivos gerais**

2.1.2. Contribuir para o avanço da Química Analítica e para o desenvolvimento da pesquisa e formação de recursos humanos no Brasil.

2.1.2. Contribuir para o desenvolvimento da técnica de microextração em fase sólida (SPME).

### **2.2. Objetivos específicos**

2.2.1. Padronização dos métodos para análise de Fenóis em amostras de águas, empregando-se as técnicas SPME-CG com detector por ionização em chama.

2.2.2. Desenvolvimento de um novo modo de agitação da amostra para uso em SPME, visando uma maior eficiência de extração, utilizando fenóis como composto teste.

2.2.3. Estudo comparativo da eficiência da extração usando o novo modo de agitação e métodos convencionais de agitação (barra magnética e fluxo contínuo) para SPME de fenóis livres pela fibra recoberta com poliacrilato (PA).

2.2.4. Estudo comparativo da eficiência da extração usando o novo modo de agitação e métodos convencionais de agitação (barra magnética e fluxo contínuo) para SPME de fenóis derivatizados pela fibra recoberta com polidimetilsiloxano (PDMS).

2.2.5. Desenvolvimento de novas fibras de SPME que possibilitem a extração de compostos polares, tais como os fenóis.

### **3. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **3.1. Reagentes**

Uma mistura de fenóis dissolvidos em metanol obtidos da Supelco (Bellefonte, PA, USA) foi usada para estudos comparativos das diversas formas de agitação da amostra. Esta mistura era composta pelos seguintes fenóis: fenol ( $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 2-cloro-fenol ( $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 2-nitro-fenol ( $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 2,4-dimetil-fenol ( $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 2,4-dicloro-fenol ( $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 2,4,6-tricloro-fenol ( $1500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 2,4-dinitro-fenol ( $1500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 4-cloro-3-metil-fenol ( $2500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 4-nitro-fenol ( $2500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 2-metil-4,6-dinitro-fenol ( $2500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e pentaclorofenol ( $2500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).

Uma mistura de seis fenóis dissolvidos em metanol foi preparada para a otimização dos sistemas de SPME. Os compostos usados neste estudo foram: fenol (Vetec), 2-cloro-fenol (Aldrich), 2,4-dimetil-fenol (Fluka), 2-nitro-fenol (Aldrich), 4-nitro-fenol (Vetec) e 2,4-dinitro-fenol (Aldrich).

Soluções padrão e estoque de trabalho de  $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$  foram preparadas diariamente com água ultrapura (feita num sistema Tedia), e estocadas a  $4^\circ\text{C}$  na geladeira.

Nos experimentos de derivatizações, usou-se bicarbonato de sódio (Grupo Química) e anidrido acético (Merck).

Para o recobrimento da fibra de vidro, preparada em laboratório, utilizou-se os reagentes precursores etóxido de nióbio V  $[(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O})_5\text{Nb}]$  (Aldrich Chemical PA) e tetracloreto de carbono (Aldrich Chemical PA).

#### **3.2. Materiais**

### 3.2.1. Cromatografia Gasosa (CG)

As análises foram conduzidas num cromatógrafo a gás Shimadzu 14B (JAPÃO, Tóquio), equipado com um detector por ionização em chama (FID) e injetor “split-splitless”. Uma coluna capilar de sílica fundida BP-1 de 25 m x 0.25 mm ID e com a fase de recobrimento de 0,25  $\mu\text{m}$  foi usada em todas as separações cromatográficas. O programa de temperatura otimizado foi: temperatura inicial de 80°C mantida por 3 minutos; em seguida, a temperatura foi elevada até 180 °C a 5 °C  $\text{min}^{-1}$ ; numa segunda rampa, elevou-se a temperatura de 180 °C até 280°C a 20 °C  $\text{min}^{-1}$  e mantida nesta temperatura por 3 min. O tempo total de corrida cromatográfica foi de 31 min. As temperaturas do injetor e detector foram de 240°C e 280°C, respectivamente. As amostras foram injetadas no modo “splitless” com o “splitter” sendo operado durante toda a análise. O mesmo programa de temperatura no cromatógrafo a gás foi usado para analisar tanto para fenóis livres como para fenóis derivatizados.

### 3.2.2. Sistema de injeção em fluxo

Duas bombas peristálticas Ismatec MS-Reglo (Glattbrugg, Suíça) de 4 e 8 canais respectivamente, providas com tubos de Tygon®, foram usadas para propulsionar todas as soluções através de uma cela *flowthrough* feita de teflon®, formando o sistema em fluxo.

### 3.2.3. Preparo da fibra de SPME recoberta com óxido de nióbio (V)

As fibras de vidro preparadas em laboratório foram recobertas quimicamente com óxido de nióbio V ( $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ), utilizando-se da técnica de decomposição de metalorgânicos. Três ciclos de recobrimento da fibra foram utilizados e seus parâmetros operacionais otimizados: tempo de contato da fibra de vidro com a solução de etóxido de nióbio V solubilizado em tetracloreto de carbono ( $\text{CCl}_4$ ) (5 min); tempo de hidrólise (5 min); tempo de contato com etanol (5 min) e tempo de secagem em temperatura ambiente (5 min). Também foi

otimizado o tempo de hidrólise após três ciclos de recobrimento (24 h). ('Recobrimento de Fibras de Vidro para Utilização na Microextração em Fase Sólida', SILVEIRA, C. B, CAMPOS, S. D., OLIVEIRA, A. F., CARASEK, E., CAMPOS, E. A.)

### 3.3. Procedimentos de SPME

Fibras recobertas com poliacrilato (PA) de 85 µm de espessura e polidimetilsiloxano (PDMS) de 100 µm de espessura foram obtidas da Supelco (Oakville, ON, Canada). De acordo com as instruções do fornecedor, ambas as fibras, recobertas com PA e PDMS, foram condicionadas sob nitrogênio a 280°C por 4 horas e a 310°C por 2 horas, respectivamente, antes de serem usadas. A nova fibra de óxido de nióbio testada neste trabalho, também foi condicionada a 330°C por 3 horas sob fluxo de nitrogênio.

As etapas de dessorção térmica dos fenóis nas formas livres e derivatizadas foram conduzidas por 2,5 e 3,0 minutos, respectivamente. A análise do branco nas mesmas condições revelou que não foram observados valores significativos de analitos retidos na fibra, os quais poderiam causar o chamado "efeito de memória" <sup>27</sup>.

Durante o processo de SPME, o transporte dos analitos do seio da solução até o recobrimento da fibra foi estudado de três maneiras: (1) pelo uso de um agitador com barra magnética; (2) com um sistema *flow-through* construído em nosso laboratório e, finalmente, (3) através de um novo sistema de agitação em fluxo envolvendo uma cela *flow-through* utilizada no sistema anterior, mas com a amostra segmentada com bolhas de ar. Estes sistemas foram utilizados em todos os experimentos de SPME e, a partir dos resultados obtidos, realizou-se um estudo comparativo da eficiência de extração do novo método de agitação e com os métodos convencionais.

#### 3.3.1. Agitação magnética

Um agitador magnético modelo 257 FANEM foi usado para experimentos de SPME com amostras aquosas contendo fenóis (livres ou derivatizados). A fibra de SPME foi colocada ligeiramente ao lado do vortex formado pela agitação da amostra no frasco, conforme ilustrado na Figura 09. Desta forma, o fluxo de fluido passa perpendicularmente pela fibra.

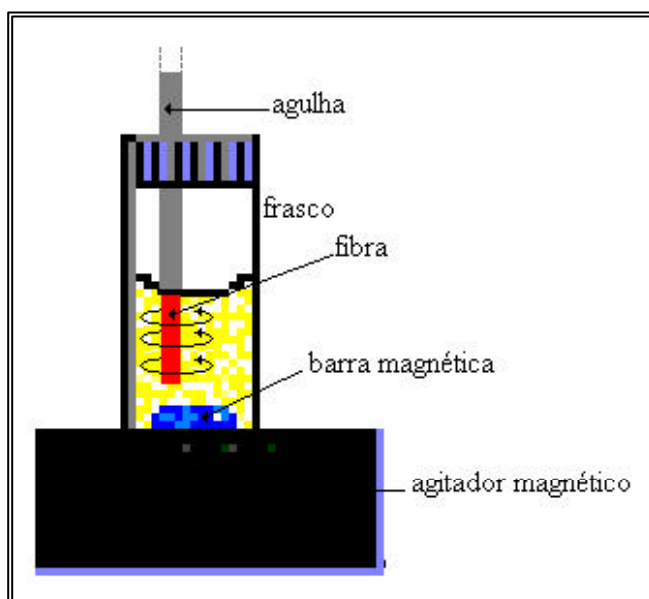


Figura 09. Modelo de amostragem direta por SPME utilizando o método de agitação com barra magnética.

A profundidade de imersão foi mantida constante e a solução foi vigorosamente agitada com o auxílio de uma barra magnética; a taxa de agitação foi constante para todas as extrações, as quais foram conduzidas à temperatura ambiente ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Aos frascos de 16 mL foram adicionados 10 mL de amostra aquosa, em todos os experimentos. Após o período de extração pré-determinado, a fibra foi imediatamente dessorvida termicamente no cromatógrafo a gás.

### 3.3.2. Cella *flow-through*

A cela *flow-through* feita de politetrafluoretileno (PTFE<sup>®</sup>) foi construída por nosso grupo exclusivamente para extração por SPME. Esta cela de extração foi conectada à amostra aquosa como ilustrado na Figura 10. A amostra passou através da cela com o auxílio de uma bomba peristáltica. O bloco de PTFE<sup>®</sup> é constituído de três conexões com 0,3 mm de diâmetro interno (di), as quais mantêm a fibra de SPME fixa e permitem a entrada e saída de amostra durante o processo de absorção. A amostra flui através da cela *flow-through*, da bomba peristáltica e dos tubos que conectam o sistema (0,7 mm di e 1,5 mm de), mantendo-se sempre constante o volume total de amostra e o volume em contato com a fibra. Uma ilustração desta configuração é apresentada na Figura 10.

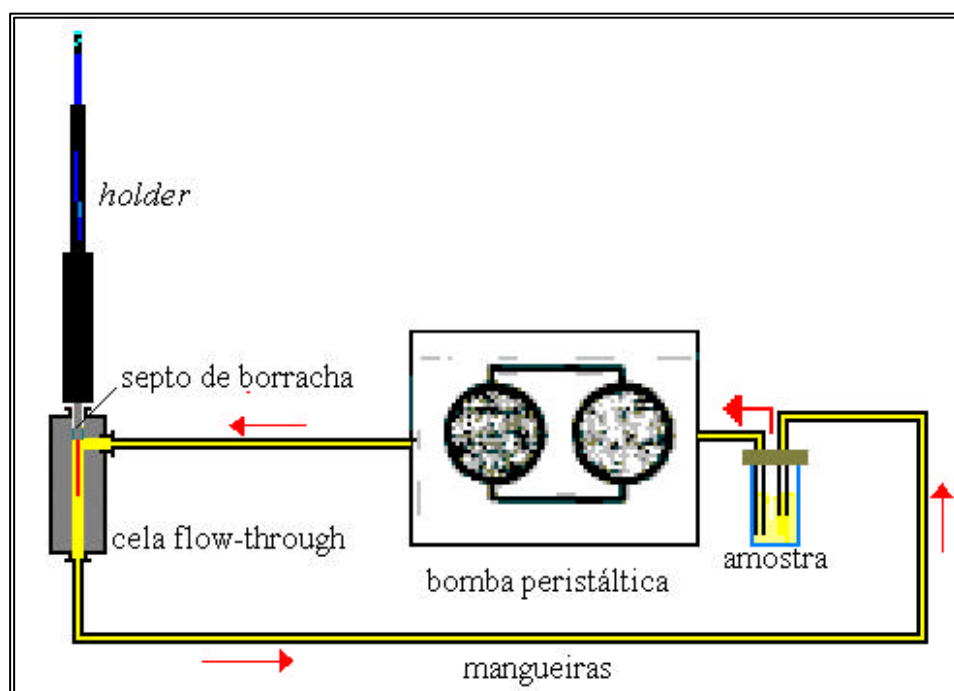


Figura 10. Modelo de amostragem direta por SPME usando o método de agitação *flow-through*.



A bomba peristáltica foi ligada logo após a fibra SPME ser inserida na cela *flow-through*. A extração foi realizada pela passagem da amostra ao redor da fibra. Depois do período de extração pré-determinado, os analitos retidos na fibra foram imediatamente dessorvidos no injetor do cromatógrafo a gás.

### 3.3.3. Cella *flow-through* segmentada com bolhas de ar

Esta cela foi desenvolvida por nosso grupo para os trabalhos com o novo procedimento de agitação da amostra. A amostra que flui através da cela *flow-through* era segmentada com bolhas de ar<sup>28</sup>, o ar utilizado neste estudo foi o próprio *headspace* da amostra, o qual será chamado somente de ar. Este sistema foi conduzido por duas bombas peristálticas: uma succionava amostra e a outra o ar, mantendo-se sempre constante o volume e a vazão da amostra, bem com a vazão do ar.

A conexão da amostra e ar foi dada por uma peça também construída de PTFE<sup>®</sup> (com duas entradas e uma saída), que foi colocada imediatamente antes da cela *flow-through* (Figura 11). O restante do procedimento de extração foi similar ao desenvolvido para o sistema *flow-through* convencional.

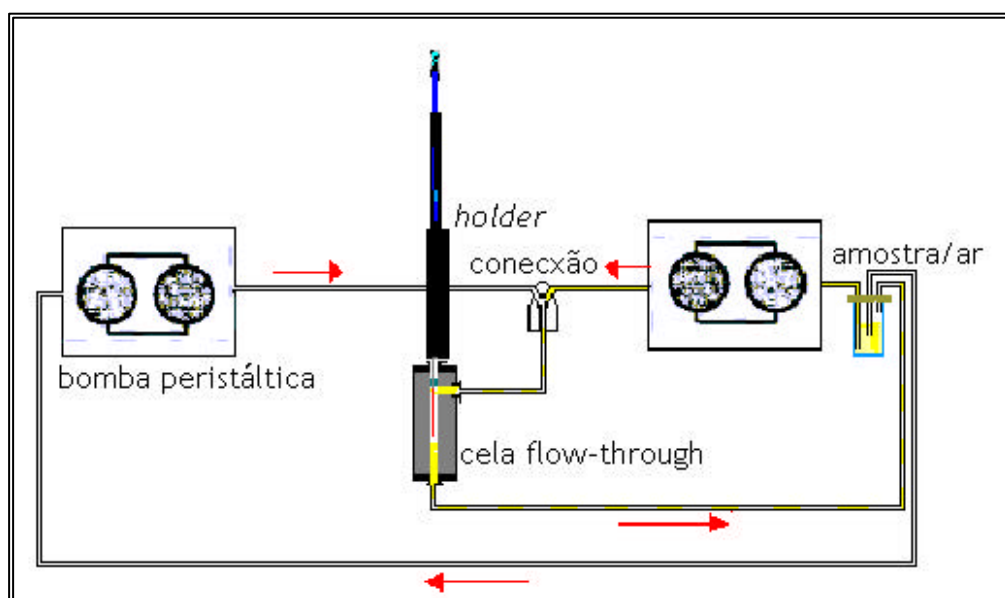


Figura 11. Modelo de amostragem direta por SPME usando o método de agitação *flow-through* segmentado com bolhas de ar.

Perfis de extração para todos os analitos foram obtidos usando os três diferentes sistemas de agitação descritos acima. A faixa de tempo de extração estudada foi de 5 a 120 min. para fenóis livres e de 0,5 a 10 min. para fenóis derivatizados. É importante ressaltar que, dentro dos limites de erro experimental, não se observou nenhum aumento na quantidade de analito extraído após os limites superiores de tempo de extração apresentados. A precisão dos métodos de SPME (n=7) foi determinada para cada método de agitação (magnética, sistema *flowthrough* e *flowthrough* segmentado com bolhas de ar) com tempos ótimos de extração de 60 e 8 min. para fenóis nas formas livres e derivatizadas, respectivamente. A vazão otimizada para fenóis livres, foi de 2,5 mL min<sup>-1</sup> para cela *flowthrough* e 2,0 mL min<sup>-1</sup> no caso dos experimentos com a cela *flowthrough* segmentada com bolhas de ar. Nestas condições operacionais, o volume da amostra foi de 10 mL. E para fenóis derivatizados, a vazão otimizada foi de 2,5 mL min<sup>-1</sup> para cela *flowthrough* e 1,4 mL min<sup>-1</sup> no caso dos experimentos com a cela *flowthrough* segmentada com bolhas de ar.

Todos os experimentos foram feitos em triplicata e corridas do branco foram feitas periodicamente.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Fenóis livres**

#### **4.1.1. Otimização das condições cromatográficas**

A primeira etapa do trabalho envolveu a otimização das condições operacionais do cromatógrafo a gás para análise dos fenóis retidos pelo recobrimento da fibra de SPME. Deste modo, foram investigadas as condições operacionais para a separação dos fenóis pela coluna cromatográfica (temperatura do forno do cromatógrafo e velocidade do gás de arraste), temperatura do detector e as condições operacionais do injetor do cromatógrafo (tempo de exposição da fibra de SPME e temperatura). Estas investigações são independentes do modo de agitação da amostra durante o processo de extração dos fenóis para a fibra de SPME. A programação de temperatura da coluna cromatográfica e a temperatura do detector estão descritas na secção 3.2.1. A temperatura do injetor e o tempo de exposição da fibra foram otimizados com o objetivo de se obter o maior sinal cromatográfico para cada fenol. Neste estudo, houve a preocupação em relação à eliminação de possíveis efeitos de memória dos fenóis retidos na fibra entre análises subseqüentes. O tempo de exposição ótimo foi obtido a partir da análise gráfica da curva de sinal cromatográfico vs. tempo de exposição da fibra na porta do injetor, na faixa de 0,5 a 10 minutos de exposição, mantendo-se a temperatura do injetor constante em 280 °C<sup>27</sup>. Após cada ensaio de dessorção dos fenóis retidos pela fibra, a fibra era novamente exposta no injetor do cromatógrafo para verificação de possível efeito de memória. Este estudo está ilustrado na Figura 12. Neste caso, observou-se que o tempo ótimo de exposição da fibra (PA) na porta do injetor foi de 2:30 minutos.

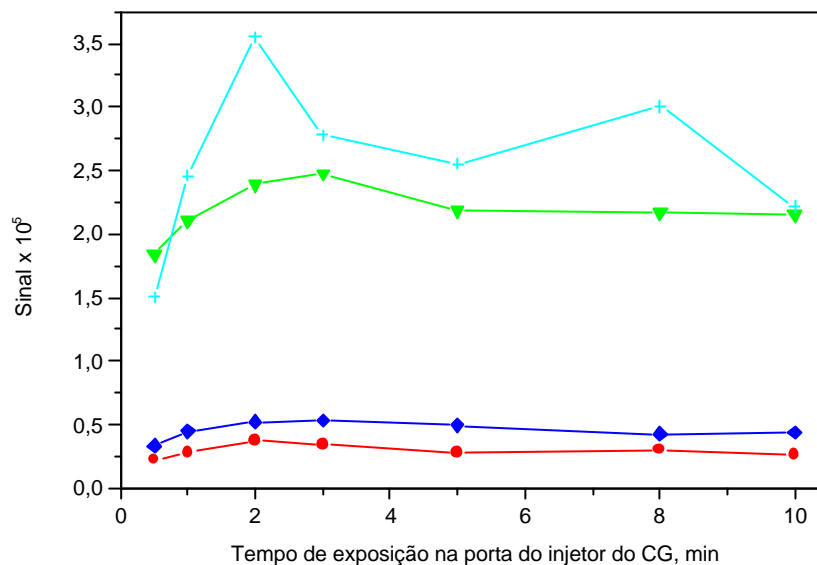


Figura 12. Otimização do tempo de exposição do recobrimento da fibra na porta do injetor no cromatógrafo a gás, para quatro fenóis pela fibra recoberta com poliacrilato (PA) durante o procedimento de SPME: ■ fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ▼ 2-cloro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ◆ 2-nitro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), + 2,4-dimetil-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).

A temperatura de dessorção térmica foi otimizada variando-se a temperatura do injetor na faixa de  $220^{\circ}\text{C}$  a  $270^{\circ}\text{C}$  e mantendo o tempo de exposição da fibra no injetor em 2:30 min<sup>27</sup>. Após encerrar a corrida cromatográfica, a fibra de SPME foi novamente exposta dentro do injetor do cromatógrafo para verificação de possíveis efeitos de memória.

A Figura 13 mostra o gráfico de sinal cromatográfico vs. temperatura do injetor. Observamos que a temperatura ótima de dessorção foi de  $240^{\circ}\text{C}$ .

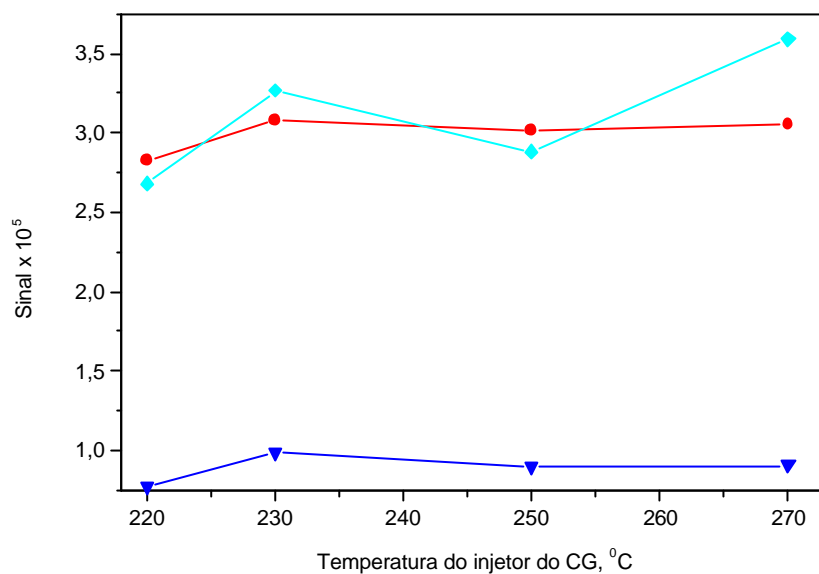


Figura 13. Otimização da temperatura do injetor do CG para o processo de dessorção térmica dos analitos retidos no recobrimento da fibra SPME cromatógrafo a gás, para três fenóis pela fibra recoberta com poliacrilato (PA) durante o procedimento de SPME: ■ fenol (0,2 µg mL<sup>-1</sup>), ■ 2-nitro-fenol (0,2 µg mL<sup>-1</sup>), ■ 2,4-dimetil-fenol (0,2 µg mL<sup>-1</sup>).

Em resumo, os experimentos ilustrados nas Figuras 12 e 13 mostram que as condições ótimas de dessorção térmica são 2:30 minutos e 240 °C.

A Figura 14 ilustra um cromatograma típico de separação dos fenóis obtido durante o procedimento de extração por SPME realizado em condições cromatográficas otimizadas (temperaturas da coluna, injetor e detector; e velocidade do gás de arraste).

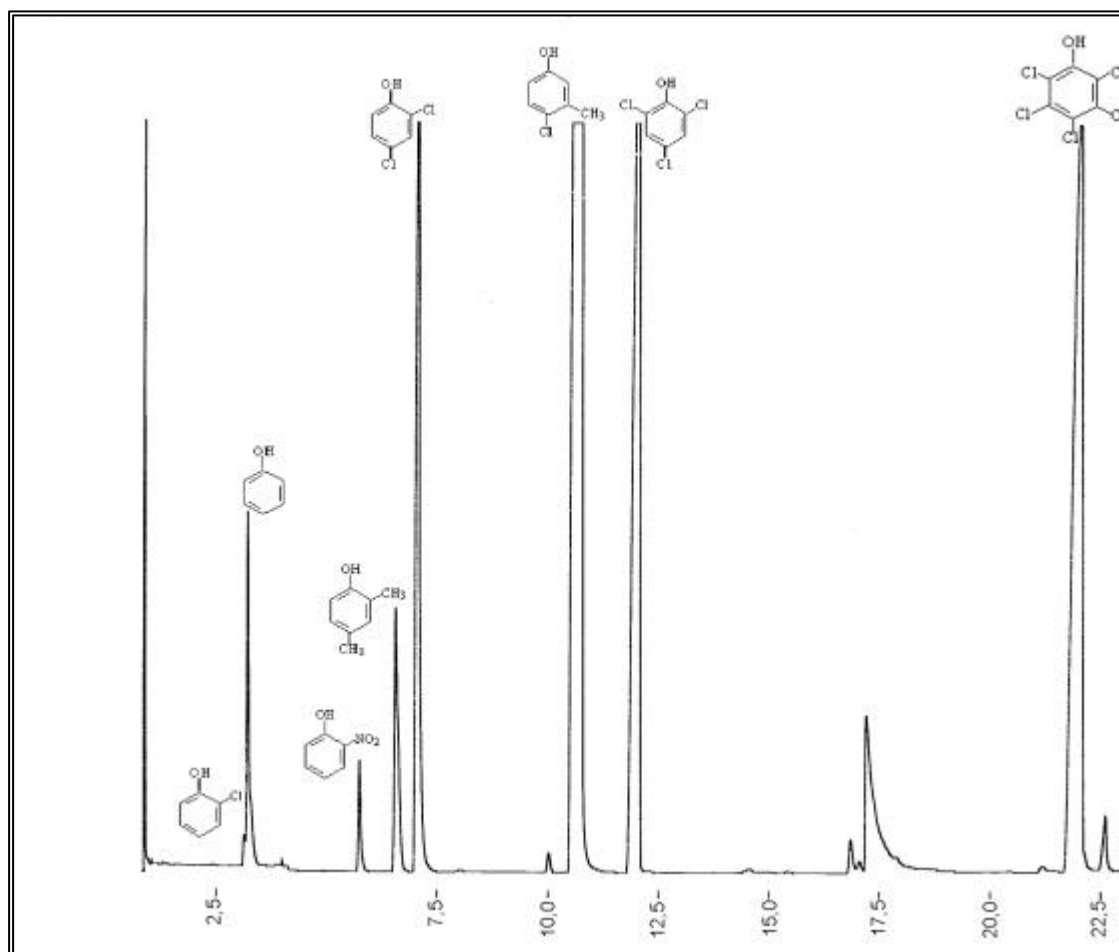


Figura 14. Cromatograma típico de separação dos fenóis após extração destes compostos na forma livre por SPME com fibra recoberta por poliacrilato (85  $\mu\text{m}$ ). Temperatura do detetor: 280  $^{\circ}\text{C}$ ; temperatura do injetor: 240  $^{\circ}\text{C}$ . Condição cromatográfica: 80  $^{\circ}\text{C}/3\text{min}$ , 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . até 180  $^{\circ}\text{C}$ , 20  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . até 280  $^{\circ}\text{C}/2\text{min}$ . Velocidade do gás de arraste: 46  $\text{cm s}^{-1}$ . Tempo de exposição na porta do injetor: 2:30 minutos.

#### 4.1.2. Otimização das formas de agitação da amostra

Uma vez otimizadas as condições cromatográficas, iniciou-se a segunda etapa deste estudo, a qual consistiu na otimização dos parâmetros operacionais dos três diferentes métodos de agitação da amostra para a extração por SPME de fenóis livres pela fibra recoberta com poliacrilato (PA). Os parâmetros operacionais otimizados foram aqueles inerentes a cada forma de agitação da amostra, e teve como objetivo realizar a comparação da eficiência de extração de cada método de

agitação em sua condição de maior extratibilidade. É importante ressaltar que a amostra submetida à extração na etapa de otimização das variáveis operacionais de cada forma de agitação consistia de uma solução preparada em laboratório contendo seis fenóis considerados poluentes prioritários pela EPA, sendo que sua concentração era a mesma que as das amostras-padrão destes compostos (EPA 604). Esta mistura era composta pelo fenol, 2-cloro-fenol ( $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 2-nitro-fenol ( $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 2,4-dimetil-fenol ( $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 4-nitro-fenol ( $2500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e 2,4-dinitro-fenol ( $1500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). O composto 2,4-dinitro-fenol, presente na solução submetida à extração, não apresentou sinal, provavelmente devido às baixas concentrações de trabalho estudadas.

Com relação ao estudo de extração dos fenóis por SPME com agitação através da barra magnética, existem relatos na literatura que há um aumento na quantidade de analitos extraído por fibras de SPME com o aumento da rotação da barra magnética<sup>29</sup>. Esta observação sugere que o aumento da rotação da barra magnética (e conseqüentemente o aumento do fluxo da amostra ao redor da fibra) produz um decréscimo na espessura da camada-limite que, por sua vez, resulta num fluxo maior de analito da solução até o recobrimento da fibra. Deste modo foi utilizada a maior rotação possível da barra magnética sem que a mesma apresentasse movimento errático. Além disto, procurou-se manter a fibra sempre na mesma posição durante a etapa de sorção dos fenóis.

Os estudos de extração dos fenóis por SPME com o uso da cela *flow-through* como método de agitação envolveram a otimização da vazão da amostra, que é um importante parâmetro inerente ao uso da cela *flow-through*. Neste estudo, variou-se a vazão de amostra controlando-se a velocidade de rotação da bomba peristáltica. A vazão foi calculada a partir da medida do volume total dispensado em uma proveta em um minuto, após a amostra passar pela cela *flow-through* (ver Figura 10 pág.25, na parte experimental, que ilustra o esquema da cela *flow-through*). É interessante observar que há relatos na literatura<sup>27</sup> de que não há efeito significativo no rendimento da extração quando se estudam independentemente sistemas abertos ou fechados. A Figura 15 mostra os resultados obtidos nesta etapa do trabalho, nos quais mediu-se o sinal

cromatográfico referente a cada um dos cinco fenóis (fenol, 2-cloro-fenol, 2-nitro-fenol, 2,4-dimetil-fenol e 4-nitro-fenol) variando-se a vazão na faixa de  $0,6 \text{ mL min}^{-1}$  até  $5,5 \text{ mL min}^{-1}$ . Da Figura 15 observamos que há um aumento significativo na intensidade do sinal (com exceção do 2-cloro-fenol) com as variações iniciais da vazão da amostra para, em seguida, atingir-se um patamar quando a vazão é de  $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ . Estes resultados sugerem que o aumento da vazão produz um decréscimo na espessura da camada-limite que, por sua vez, resulta num fluxo maior de analito da solução até o recobrimento da fibra. Este efeito é observado até um valor limite de vazão ( $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ ), após o qual supõe-se que não há mais decréscimo na espessura da camada-limite (provavelmente devido à limitação do próprio método *flow-through*).

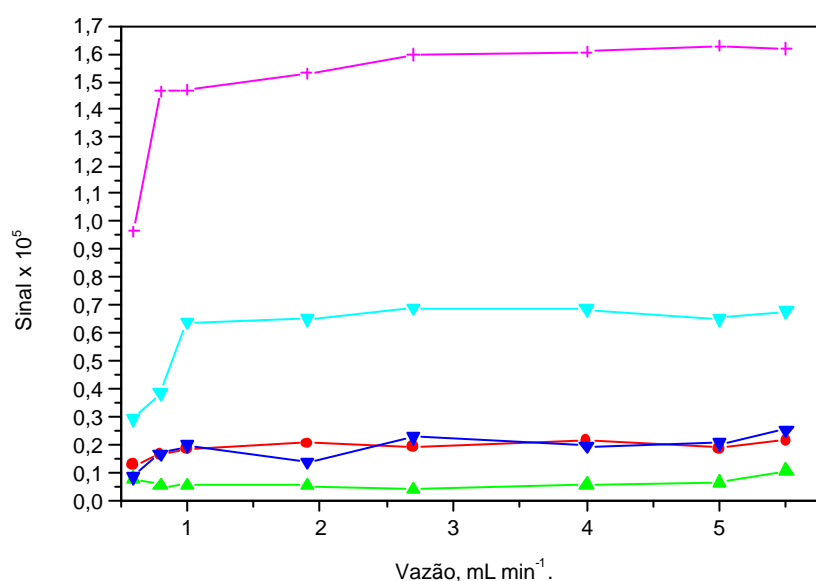


Figura 15. Influência da variação da vazão de  $0,6 \text{ mL min}^{-1}$  –  $5,5 \text{ mL min}^{-1}$  em função do sinal para cinco fenóis; ■ fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-cloro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-nitro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2,4-dimetil-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ 4-nitro-fenol ( $0,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Condições experimentais: Volume da amostra de 10 mL (sistema fechado); método de agitação: cela '*flow-through*'; tempo de exposição: 45 min.



Assim sendo, a vazão otimizada para este método de agitação foi de 2,5 mL min<sup>-1</sup>, a qual foi usada nos estudos comparativos apresentados nas seções subseqüentes. Em princípio, também é possível realizar uma avaliação quantitativa dos efeitos acima sugeridos. Isto pode ser feito com base em estudos de mecânica dos fluidos referentes a escoamentos internos de fluidos viscosos incompressíveis <sup>17</sup>, os quais mostram haver uma relação de proporcionalidade entre a espessura da camada-limite de difusão,  $\delta$  ( $\mu\text{m}$ ), e a velocidade linear do fluido,  $u$  ( $\text{cm.s}^{-1}$ ). Uma vez que a vazão da amostra pode ser convertida em velocidade linear do fluido (multiplicando-se a vazão pelo comprimento que corresponde à leitura de 1 mL na bureta utilizada durante a determinação da vazão), é possível mostrar que há um decréscimo da espessura da camada-limite em função do aumento da vazão. No caso da cela *flow-through*, em que o fluxo de amostra é axialmente simétrico com relação à fibra <sup>30</sup>, a equação apropriada é:

$$\delta = \frac{2,64 \cdot b}{Sc^{0,43} \cdot Re^{0,50}} \quad (\text{equação 5})$$

Onde:  $b$  é a espessura do recobrimento da fibra PA (85  $\mu\text{m}$ );  $Pr$  é o número de Schmidt, obtido por  $Sc = \nu \cdot D^{-1}$  ( $\nu$ : viscosidade cinemática da água = 0,009  $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ;  $D$ : coeficiente de difusão do analito em água);  $Re$  é o número de Reynolds, obtido por  $2u_b \cdot \nu^{-1}$ .

O caso do fenol será tomado como exemplo. Seu coeficiente de difusão em água a 20°C é  $0,89 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  <sup>31</sup>; o comprimento, em cm, referente à variação de 1 mL na bureta usada na determinação da vazão, é de 0,7 cm. Conseqüentemente, o número de Schmidt  $Sc = 1011,23$ . A aplicação da equação 5 para diversos valores de  $u$ , correspondentes à faixa de vazão estudada, resulta no gráfico de espessura da camada-limite,  $\delta$ , em função da velocidade linear do fluido,  $u$  (Figura 16).

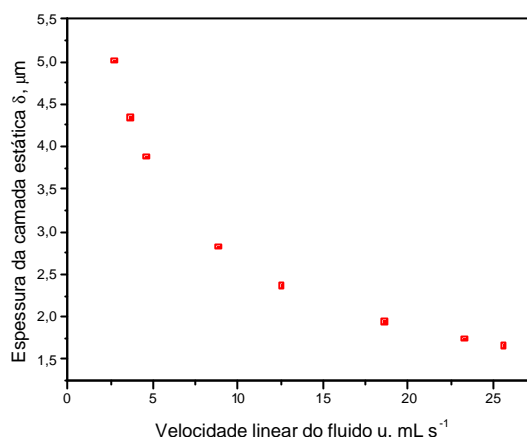


Figura 16. Variação da espessura da camada-limite,  $\delta$ , em função da velocidade linear do fluido para o fenol, na faixa de  $u = 2,8$  a  $25,7 \text{ cm s}^{-1}$ , correspondente a uma faixa de vazão de  $0,6$  a  $5,5 \text{ mL min}^{-1}$ .

Neste gráfico, observa-se claramente a redução da  $\delta$  com o aumento da velocidade linear do fluido. Pode-se observar que  $\delta = 5,0 \mu\text{m}$  quando a vazão é de  $0,6 \text{ mL min}^{-1}$ , enquanto que  $\delta = 2,4 \mu\text{m}$  a  $2,5 \text{ mL min}^{-1}$  (neste caso, porém, não há o patamar inferior  $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ ). Portanto, é possível afirmar que o aumento na intensidade do sinal referente ao fenol à medida que a vazão aumenta, fato observado nos experimentos de otimização da vazão da amostra, é devido à diminuição de  $\delta$ . É importante ressaltar que não apresentamos as correspondentes curvas de espessura da camada-limite vs. velocidade linear do fluido para os demais fenóis estudados pelo fato de não havermos encontrado dados na literatura referentes a seus coeficientes de difusão. Mesmo assim, acreditamos que a explicação dada acima seja genérica, uma vez que as curvas obtidas durante a otimização da vazão apresentaram as mesmas características.

Os estudos de extração dos fenóis por SPME com o uso da cela *flow-through* segmentada também envolveram a otimização da vazão da amostra. A Figura 17 mostra os resultados obtidos durante a otimização da vazão de amostra com cela *flow-through* segmentada, nos quais mediu-se o sinal cromatográfico referente a cada um dos cinco fenóis variando-se a vazão na faixa de  $0,3$  até  $3,3 \text{ mL min}^{-1}$ . Observamos que o gráfico resultante dos experimentos de otimização

da vazão apresenta comportamento análogo ao observado nos estudos com a cela *flowthrough*. Há um aumento significativo na intensidade do sinal com as variações iniciais da vazão da amostra para, em seguida, atingir-se um patamar quando a vazão está em torno de  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ . Portanto, é possível afirmar que o aumento na intensidade do sinal referente aos fenóis à medida que a vazão aumenta também é devido à diminuição de  $\delta$ . Outra variável estudada foi o tamanho das bolhas de ar/amostra que iriam passar através da cela *flowthrough*. A partir do estudo da vazão pôde-se observar que os tamanhos das bolhas de ar/amostra variavam a cada mudança no fluxo. Infelizmente, não foi possível manter o tamanho da bolha de ar constante para variar o tamanho da amostra, e vice-versa. Sendo assim, o melhor resultado foi alcançado quando a bolha de ar passava pela cela com o mesmo tamanho da amostra (aproximadamente 1 cm).

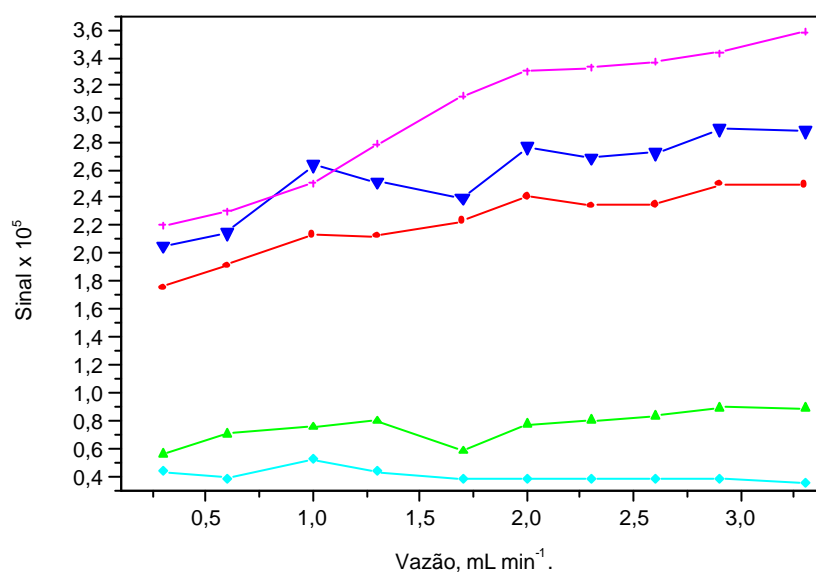


Figura 17. Influência da variação do sinal em função da vazão de  $0,3 \text{ mL min}^{-1}$  -  $3,3 \text{ mL min}^{-1}$  em função do sinal para cinco fenóis; ■ fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-cloro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-nitro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2,4-dimetil-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ 4-nitro-fenol ( $0,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Condições experimentais: Volume da amostra de 10 mL (sistema fechado); método de agitação; Cella *flowthrough* segmentada com bolhas de ar; tempo de exposição: 45 min.

#### 4.1.3. Obtenção das Figuras de mérito analítico

Nesta etapa do trabalho foram obtidos dados analíticos para cada método de agitação da amostra, entre eles, o perfil de extração (curva de tempo de exposição da fibra na amostra), estimativa do desvio padrão relativo e linearidade. As Figuras 18, 19 e 20 mostram, respectivamente, os resultados referentes à obtenção dos perfis de extração SPME com fibra de poliacrilato para cinco fenóis (fenol, 2cloro-fenol, 2nitro-fenol, 2,4-dimetil-fenol e 4-nitro-fenol) quando utilizada barra magnética, cela *flowthrough* e cela *flowthrough* segmentada.

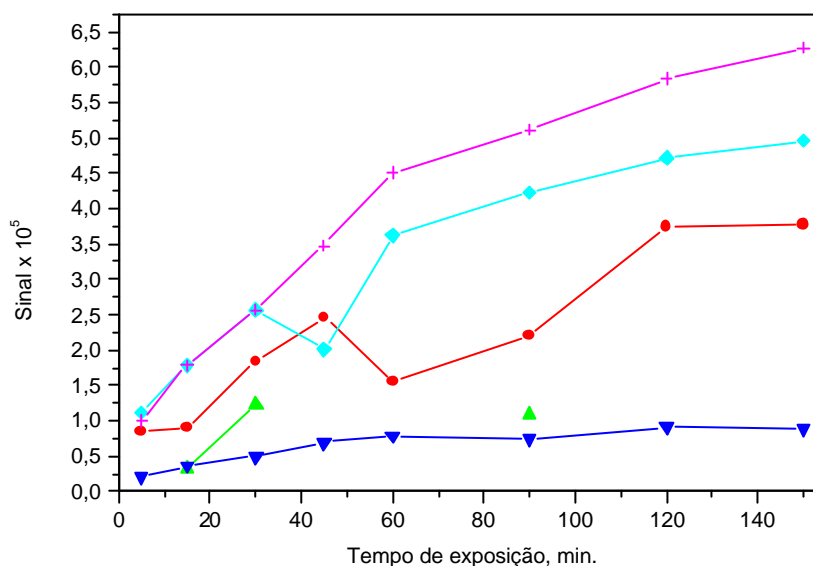


Figura 18. Perfis de extração de cinco fenóis pela fibra recoberta com poliacrilato (PA) durante o procedimento de SPME: ■ fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-cloro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2-nitro-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ 2,4-dimetil-fenol ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ 4-nitro-fenol ( $0,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Condições experimentais: Volume da amostra: 10 mL; método de agitação: barra magnética.

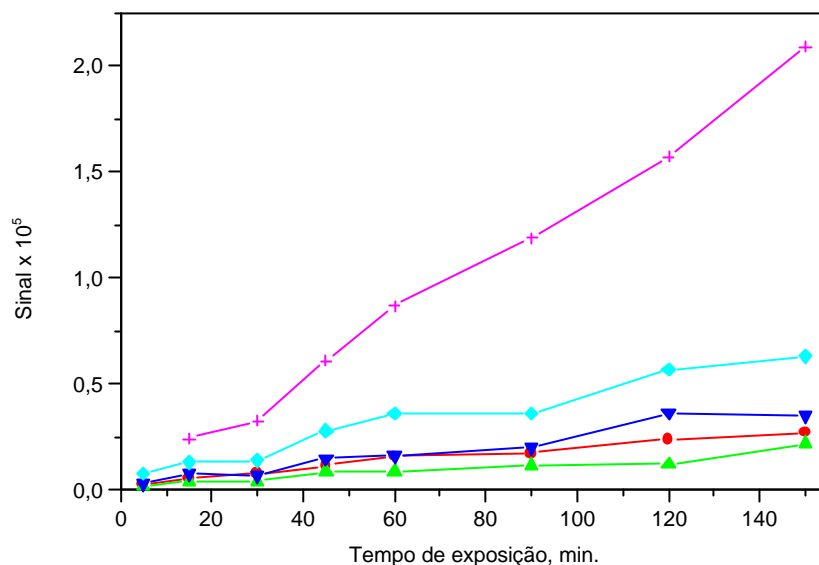


Figura 19. Perfis de extração de cinco fenóis pela fibra recoberta com poliacrilato (PA) durante o procedimento de SPME: ■ fenol (0,2 µg mL<sup>-1</sup>), ■ 2-cloro-fenol (0,2 µg mL<sup>-1</sup>), ■ 2-nitro-fenol (0,2 µg mL<sup>-1</sup>), ■ 2,4-dimetil-fenol (0,2 µg mL<sup>-1</sup>) e ■ 4-nitro-fenol (0,6 µg mL<sup>-1</sup>). Condições experimentais: Volume da amostra: 10 mL (sistema fechado); método de agitação: Cella 'flow-through'; Vazão da amostra 2,5 mL min<sup>-1</sup>.

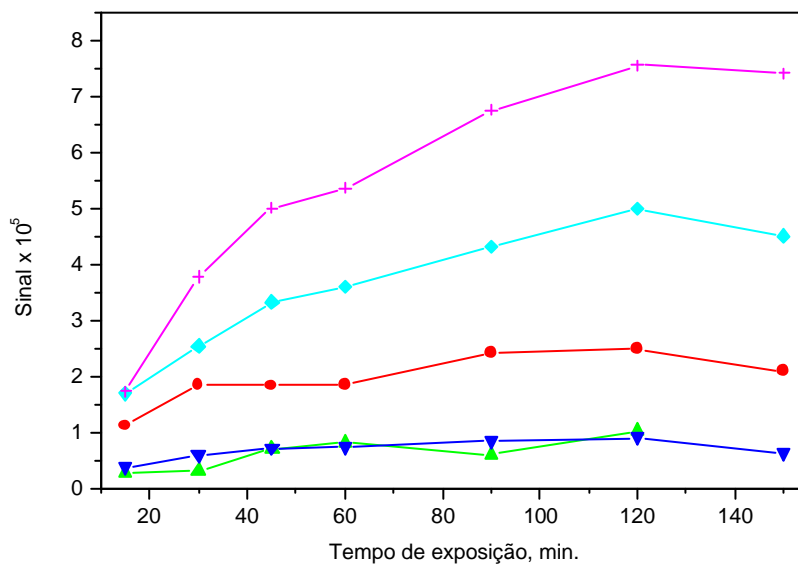


Figura 20. Perfis de extração de cinco fenóis pela fibra recoberta com poliacrilato (PA) durante o procedimento de SPME: ■ fenol (0,2 µg mL<sup>-1</sup>), ■ 2-nitro-fenol (0,2 µg mL<sup>-1</sup>), ■ 2,4-dimetil-fenol (0,2 µg mL<sup>-1</sup>) e ■ 4-nitro-fenol (0,6 µg mL<sup>-1</sup>). Condições experimentais: Volume da amostra: 10 mL; método de agitação: Cella flow-Through segmentada com bolhas de ar; Vazão: 2,0 mL min<sup>-1</sup>.

As curvas de sinal cromatográfico vs. tempo de exposição resultantes para os cinco fenóis apresentam uma característica em comum para os três métodos de agitação; observa-se que em todos os casos houve um aumento inicial no sinal do CG, o qual é proporcional à quantidade de analito absorvido pela fibra, para, em seguida, atingir um patamar em tempos de exposição mais prolongados. O tempo de exposição no qual o perfil de extração atinge um patamar está diretamente relacionado ao tempo necessário para atingir-se o equilíbrio de partição do analito entre o recobrimento da fibra e a amostra. Assim sendo, os resultados obtidos nesta etapa mostram que os diferentes fenóis apresentam diferentes tempos de equilíbrio de distribuição entre o recobrimento e a amostra, o que se relaciona ao fato dos fenóis apresentarem diferentes coeficientes de difusão. Observamos que quando utilizado a barra magnética, o menor tempo de equilíbrio foi de 60 min. para o composto 2-nitro-fenol, enquanto que o maior tempo foi de 150 min. para os compostos 4-nitro-fenol e 2,4-dimetil-fenol <sup>20,27</sup>. Para a agitação da amostra através da cela *flow-through*, observamos que o menor tempo de equilíbrio é de 90 min. para o composto 2-cloro-fenol, enquanto que para o fenol, o 2,4-dimetil-fenol e o 4-nitro-fenol o maior tempo para atingir o equilíbrio de partição está acima de 150 min. Para a agitação da amostra através da cela *flowthrough* segmentada, observamos que o menor tempo de equilíbrio é de 45 min. para o composto 2nitro-fenol, enquanto que o maior tempo é de 120 min. para o composto 4-nitro-fenol. Uma vez que o perfil de agitação apresentado na Figura 20 refere-se a um novo método de agitação, tal resultado serve como mais uma evidência experimental de que o modo de transporte do analito do seio da solução até o recobrimento da fibra é um importante parâmetro a ser otimizado durante a SPME. Uma abordagem mais quantitativa das diferenças entre os métodos estudados será realizada numa seção posterior (4.3). Os resultados observados nestes experimentos confirmam a importância de otimizar o tempo de exposição da amostra à fibra para caracterizar corretamente o sistema em estudo e escolher o tempo de exposição mais apropriado para estudos posteriores. É importante ressaltar que é possível realizar extrações para fins quantitativos em tempos de exposição abaixo do tempo de equilíbrio. Um exemplo disto é o uso da

SPME com amostras em fluxo, nos quais observa-se uma relação direta entre a quantidade de analito extraída e a velocidade da amostra em torno da fibra, mesmo em tempos de extração bem abaixo do tempo de equilíbrio<sup>30</sup>. A relação de proporcionalidade é válida até um limite de velocidade, acima do qual o modelo proposto não é válido, observando-se que a quantidade de analito extraído torna-se constante.

As tabelas 03, 04 e 05 descrevem as figuras de mérito para oito fenóis constituintes do grupo de poluentes prioritários (EPA 604) e que foram extraídos por SPME utilizando, respectivamente, agitação com barra magnética, cela *flow-through* e cela *flow-through* segmentada como métodos de agitação da amostra. Os três outros fenóis que também estavam presentes na amostra a ser analisada e não foram observados nos cromatogramas são: 4-nitro-fenol, 2,4-dinitro-fenol e 2-metil-4,6-dinitro-fenol. Uma possível explicação para esta observação baseia-se no fato de que fenóis substituídos com grupos nitro na posição quatro apresentam elevada acidez e polaridade. Isto faz com que tais compostos tenham alta afinidade pela água. A observação de um sinal cromatográfico referente ao 2-nitro-fenol pode ser explicada pela formação de pontes de hidrogênio intramoleculares, as quais diminuem tanto a acidez como a polaridade deste composto, quando comparado com os três nitro-fenóis acima mencionados<sup>32</sup>.

Tabela 04. Figuras de mérito para oito fenóis extraídos por SPME com agitação magnética.

Compostos	A	B	% RSD	r	LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Fenol	-1792	29264	13,7	0,9980	0,48
2-cloro-fenol	2488	26944	-	0,9999	0,48
2-nitro-fenol	-1231	28370	3,1	0,9974	0,48
2,4-dimetil-fenol	-2936	88980	2,7	0,9961	0,16
2,4-dicloro-fenol	-12293	287807	15,9	0,9956	0,20
2,4,6-tricloro-fenol	-26215	419456	22,4	0,9926	0,027
Pentacloro-fenol	-182542	438035	15,3	0,9992	0,023
4-cloro-3-metil-fenol	-43546	232716	8,0	0,9965	0,065

A: coeficiente linear, B= coeficiente angular,  $RSD_{n=7}$ , r=coeficiente de correlação e LD=limite de detecção

Tabela 05. Figuras de mérito para sete fenóis extraídos por SPME usando a cela *flowthrough*.

Compostos	A	B	% RSD	r	LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Fenol	-778	56871	11,6	0,9999	0,035
2,nitro-fenol	-99	18006	8,8	0,9998	0,035
2,4-dimetil-fenol	-1586	73471	4,0	0,9993	0,016
2,4-dicloro-fenol	-2499	167203	8,0	0,9988	0,016
2,4,6-tricloro-fenol	20504	142674	6,0	0,9975	0,003
Pentacloro-fenol	60392	98316	8,0	0,9988	0,004
4-cloro-3-metil-fenol	-9430	159101	5,0	0,9952	0,010

A: coeficiente linear, B= coeficiente angular,  $\text{RSD}_{n=7}$ , r=coeficiente de correlação e LD=limite de detecção.

Tabela 06. Figuras de mérito para oito fenóis extraídos por SPME usando a cela *flowthrough* segmentada com bolhas de ar.

Compostos	A	B	% RSD	r	LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Fenol	-2812	51790	5,1	0,9999	0,04
2-cloro-fenol	901	13792	14,0	0,9979	0,037
2-nitro-fenol	36	19153	6,7	0,9960	0,08
2,4-dimetil-fenol	-3529	87351	3,0	0,9973	0,08
2,4-dicloro-fenol	-339	156585	8,0	0,9992	0,05
2,4,6-tricloro-fenol	45888	47739	4,0	0,9434	0,009
Pentacloro-fenol	52851	102012	8,0	0,9999	0,010
4-cloro-3-metil-fenol	-3471	144291	3,0	0,9923	0,009

A: coeficiente linear, B= coeficiente angular,  $\text{RSD}_{n=7}$ , r=coeficiente de correlação e LD=limite de detecção.

As precisões dos métodos de agitação foram determinadas após 7 extrações consecutivas da fibra SPME à amostras de fenóis, nas condições ótimas de trabalho obtidas no estudo de otimização para cada sistema de extração, e de dessorção no injetor do cromatógrafo a gás. Tanto para o cálculo do desvio padrão relativo (RSD) como para a obtenção da curva de calibração, o



tempo de exposição da fibra à solução de interesse foi de 60 min. para todos os métodos de agitação da amostra de fenóis. Os valores referentes à precisão das medidas estão em boa concordância com dados da literatura<sup>27</sup>. Com relação à precisão das medidas feitas com agitação magnética, valores de RSD variaram de 3 a 22% (tabela 04). No caso da cela *flow-through* a precisão foi maior, sendo que o RSD variou de 3 a 12% (tabela 05). Finalmente, no caso da cela *flowthrough* segmentada com bolhas de ar obteve-se também uma boa precisão, com uma faixa de RSD de 3 a 14% (tabela 06).

No que diz respeito aos limites de detecção observou-se que os métodos *flowthrough* e *flow-through* segmentada com bolhas de ar apresentaram limites de detecção similares, da ordem de 0,003 a 0,04  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Além disso, estes métodos apresentaram uma maior sensibilidade, quando comparados ao uso da agitação magnética, que apresentou limites de detecção na ordem de 0,027 a 0,48  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

#### **4.1.4. Comparação da eficiência dos métodos de agitação da amostra**

Finalmente, realizou-se o estudo comparativo da eficiência da extração SPME com os três métodos de agitação. A comparação foi feita a partir da análise dos perfis de extração dos analitos com cada um dos métodos de agitação em suas condições otimizadas de trabalho. Os parâmetros levados em consideração foram o rendimento da extração e o tempo necessário para alcançar o equilíbrio de partição dos analitos entre a solução e o recobrimento da fibra, sendo que o tempo de equilíbrio é dado pelo tempo no qual atinge-se o patamar na curva de saturação do perfil de extração. É importante ressaltar que a comparação baseou-se em perfis de extração efetuados num mesmo dia. Isto foi realizado com o objetivo de minimizar o efeito de erros indeterminados como a variação na sensibilidade do equipamento de análise e na capacidade de sorção da fibra SPME<sup>1</sup>. (O estudo do perfil de extração para cada método de agitação citado na secção anterior foi realizado em dias diferentes). A Figura 21 mostra o rendimento da extração SPME de fenóis livres nas três diferentes condições de agitação estudadas.

A Figura 21 mostra que o rendimento da extração SPME com os diferentes fenóis é aproximadamente o mesmo para os seis primeiros. Por outro lado, observou-se uma discrepância no rendimento de extração do pentaclorofenol e do 2,4,6-tricloro-fenol quando utilizado agitação com barra magnética. Para estes dois compostos, o maior rendimento de extração foi observado quando do uso da barra magnética como método de agitação, possivelmente devido ao baixo coeficiente de difusão destas moléculas na fibra PA. Uma vez que os métodos em fluxo apresentam como característica baixos tempos de interação da solução de amostra com o recobrimento da fibra, é possível que não tenha ocorrido a difusão dos analitos para dentro da fibra.

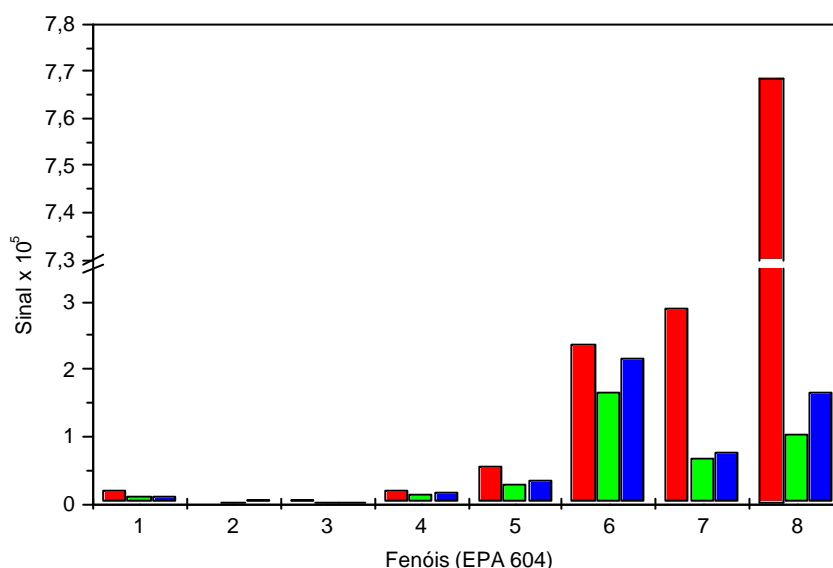


Figura 21. Comparação do rendimento da extração SPME de fenóis livres: ■ agitação magnética ■ cela flow-through ■ cela *flow-through* segmentada. Fenóis: (1) fenol, (2) 2cloro-fenol, (3) 2nitro-fenol, (4) 2,4-dimetil-fenol, (5) 2,4-dicloro-fenol, (6) 4-cloro-3-metil-fenol, (7) 2,4,6-tricloro-fenol e (8) pentacloro-fenol . Tempo de exposição: 45 min.; volume da amostra: 10 mL; vazão para o método *flow-through*: 2,5 mL min<sup>-1</sup>; vazão para o método *flow-through* segmentado: 2,0 mL min<sup>-1</sup>.

Além disso, a comparação dos rendimentos de extração destes dois compostos com o uso da cela *flow-through* e *flow-through* segmentada mostra que a segmentação resultou em maiores rendimentos. Uma possível explicação para este fato é apresentada na seção 4.3.

A análise da eficiência da extração foi então realizada comparando-se os tempos de equilíbrio de extração SPME com cada método de agitação. Em virtude dos resultados acima, estudou-se a eficiência da extração apenas para os fenóis livres que apresentaram rendimentos de extração similares.

A Figura 22 apresenta o tempo de exposição, referente ao tempo de equilíbrio de partição dos fenóis livres, em função do método de agitação, para quatro fenóis: fenol, 2-nitro-fenol, 2,4-dimetil-fenol, 4-nitro-fenol. Observa-se, inicialmente, uma diminuição significativa no tempo de equilíbrio quando se utiliza o método *flow-through* segmentado com bolhas de ar, se comparado aos tempos de equilíbrio obtidos com o uso dos métodos convencionais.

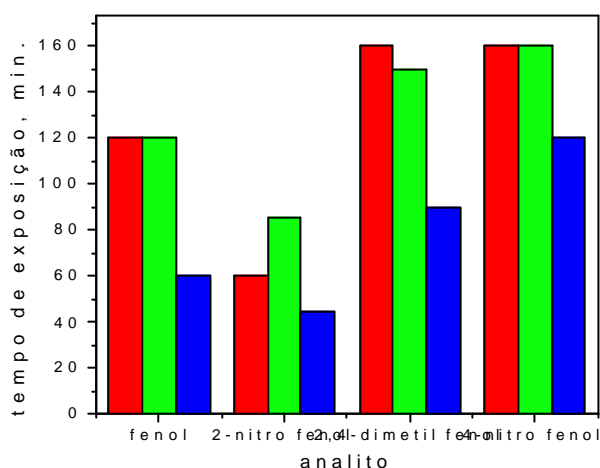


Figura 22. Comparação da eficiência da extração SPME para os diferentes métodos de agitação: ■ agitação magnética ■ cela *flow-through* ■ cela *flow-through* segmentada. Condições experimentais: volume da amostra: 10 mL; vazão para o método *flow-through*: 2,5 mL min<sup>-1</sup>; vazão para o método *flow-through* segmentado: 2,0 mL min<sup>-1</sup>.

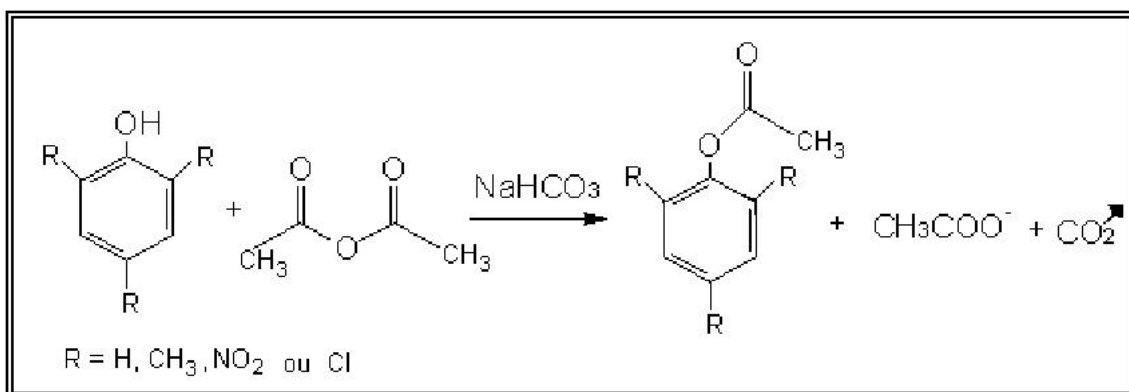
Uma vez que a eficiência do processo é medida pelo próprio tempo de equilíbrio, conclui-se que a extração por SPME de fenóis com o novo método de agitação apresentado neste trabalho é mais eficiente do que a extração SPME com métodos de agitação convencionais. Desta forma, observa-se que, no caso do fenol, a eficiência é aproximadamente duas vezes maior com o uso da cela *flow-through* segmentada com bolhas de ar do que com a agitação magnética ou cela *flow-through* (ou seja, o tempo de equilíbrio é duas vezes menor). A extração

de 2-nitro-fenol utilizando o novo método apresentou um ganho de eficiência de 50% quando comparado com a agitação com barra magnética; este ganho é de 100% quando se usa o método de agitação *flow-through* como base para comparação. O 2,4-dimetil-fenol apresenta um ganho de 100% com relação à agitação magnética e de aproximadamente 90% com relação à agitação *flow-through*. Finalmente, para o 4-nitro-fenol, observa-se que a eficiência da extração usando-se o método *flow-through* segmentado com bolhas de ar é 25% maior do que a eficiência da extração com o uso dos métodos convencionais de agitação.

## 4.2. Fenóis Derivatizados

Como dito na introdução deste trabalho (seção 1.5), a extração por SPME de fenóis derivatizados conduz a um aumento da eficiência e da sensibilidade desta técnica, quando comparada à extração SPME de fenóis livres. Sendo assim, a metodologia de trabalho, descrita anteriormente para a otimização do procedimento SPME na extração de fenóis, também foi aplicada para os correspondentes acetatos fenólicos produzidos por derivatização direta. Neste caso, porém, utilizou-se uma fibra recoberta com polidimetilsiloxano, que é menos polar do que o poliácrlato e, conseqüentemente, mais adequada para análise de analitos menos polares.

Neste caso, a otimização dos métodos de agitação da amostra foi realizada utilizando-se de uma mistura de seis fenóis (fenol, 2-cloro-fenol, 2-nitro-fenol, 2,4-dimetil-fenol, 4-nitro-fenol e 2,4-nitro-fenol) preparada como descrito abaixo. Em 100 mL de solução aquosa contendo os fenóis citados acima, na mesma concentração calculada para amostras padrão (EPA 604), adicionaram-se 4,0 g de bicarbonato de sódio e 170 µL de anidrido acético, segundo a reação<sup>27</sup>:



Fenol + anidrido acético + bicarbonato de sódio → acetato fenólico

A solução foi mantida sob agitação até cessar a evolução de dióxido de carbono e, imediatamente, analisada por SPME com o uso de fibras recobertas com PDMS. Como resultado, observou-se que não ocorreram as derivatizações dos compostos nitro-fenóis, provavelmente devido a pouca disponibilidade para

reação dos pares de elétrons não-compartilhados do oxigênio fenólico em compostos contendo grupos nitro retiradores de elétrons.

De um modo geral, observou-se que fenóis derivatizados analisados por SPME resultaram num aumento tanto na eficiência como na sensibilidade da técnica. Além disso, ressaltamos que o comportamento qualitativo dos resultados referentes à otimização do método de agitação para extração de fenóis derivatizados foi similar ao observado durante a extração SPME dos fenóis livres. A Figura 23 ilustra um cromatograma típico de separação dos fenóis derivatizados obtido durante o procedimento de extração por SPME realizado em condições cromatográficas otimizadas (temperaturas da coluna, injetor e detector e velocidade do gás de arraste).

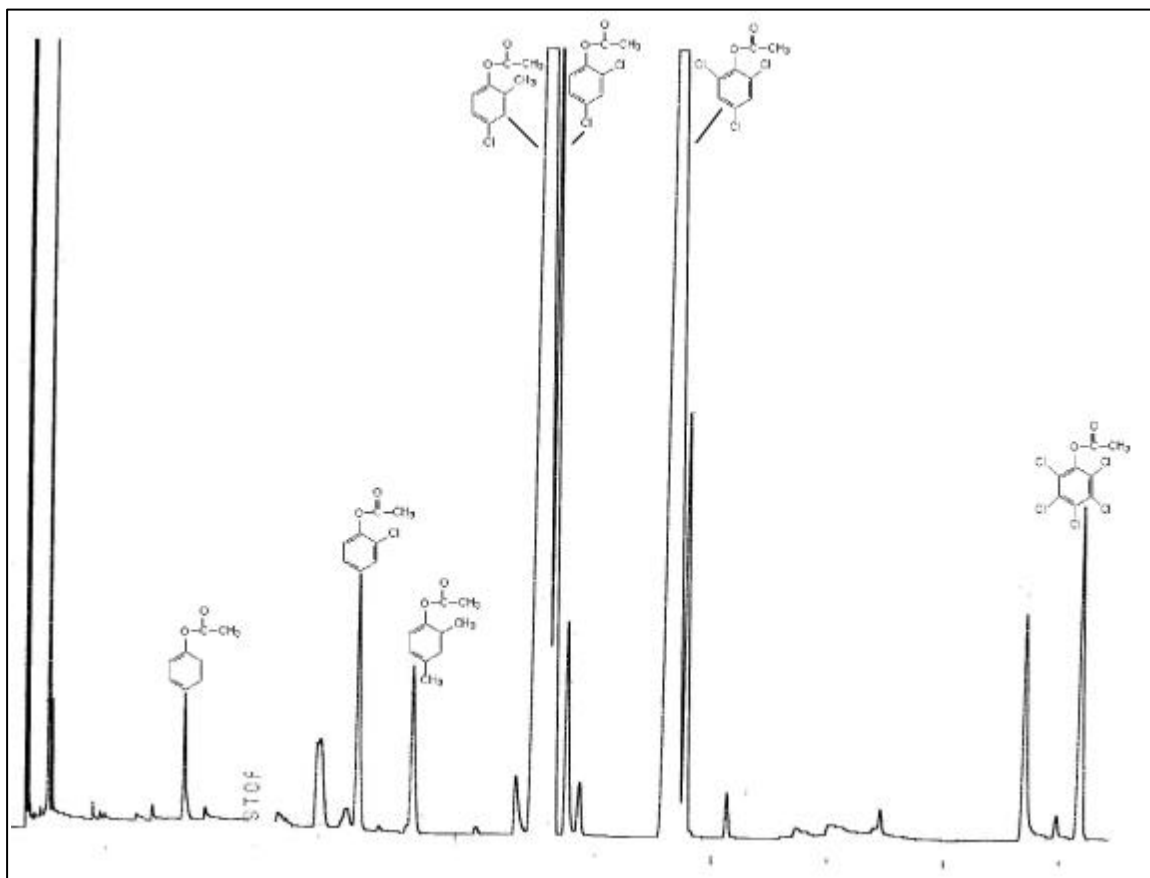


Figura 23. Cromatograma típico de separação dos fenóis derivatizados após extração destes compostos na forma livre por SPME com fibra recoberta por polidimetilsiloxano. Temperatura do detector: 280°C; temperatura do injetor: 240 °C. Condição cromatográfica: 80 °C/3min, 5 °C/min. até

180 °C, 20 °C/min. até 280 °C/2min. Velocidade do gás de arraste 46 cm s<sup>-1</sup>. Tempo de exposição na porta do injetor: 3:00 minutos.

#### **4.2.1. Otimização das formas de agitação da amostra**

De modo semelhante ao estudo dos fenóis em sua forma livre, iniciou-se o estudo com os fenóis derivatizados com a otimização dos parâmetros operacionais dos três diferentes métodos de agitação da amostra para a extração por SPME pela fibra recoberta com polidimetilsiloxano (PDMS). Os parâmetros operacionais otimizados foram os mesmos que os estudados para os fenóis livres. É importante lembrar que a amostra submetida à extração, na etapa de otimização das variáveis operacionais de cada forma de agitação, consistia de uma solução preparada em laboratório contendo seis fenóis considerados poluentes prioritários pela EPA 604, sendo que sua concentração era a mesma que as das amostras-padrão destes compostos (EPA 604), e que foi submetida ao processo de derivatização. Destes seis fenóis, os compostos nitro-fenólicos, não foram convertidos para acetatos e, portanto, neste estudo de otimização apresentaremos dados para os três fenóis restantes. Também neste estudo, a rotação da barra magnética foi àquela máxima permitida sem efeito errático sobre o movimento da mesma. No caso dos métodos *flow-through* e *flow-through* segmentado, inicialmente estudou-se a posição da cela de extração em relação à posição da bomba peristáltica. Em outras palavras, estudou-se se haveria diferença no sinal cromatográfico dos acetatos fenólicos se a amostra passasse primeiro pela cela de extração ou pelo tubo de Tygon® da bomba peristáltica. Esta preocupação procede de estudos anteriores que demonstraram a absorção de compostos orgânicos pelo tubo de Tygon® e ao fato dos perfis de extração dos acetatos fenólicos apresentarem acentuada queda de sinal quando utilizado o sistema fechado de fluxo em relação ao sistema aberto de fluxo, conforme ilustrado nas Figuras 24 e 25<sup>28</sup>.

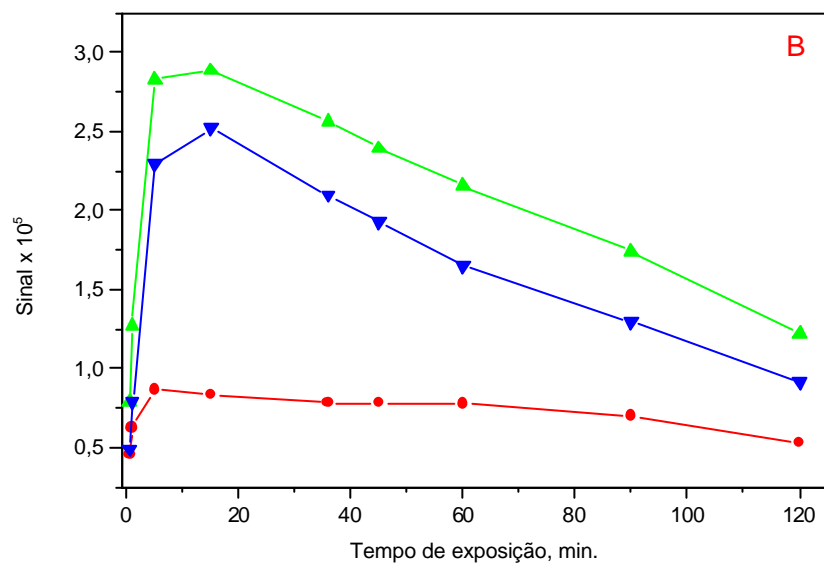
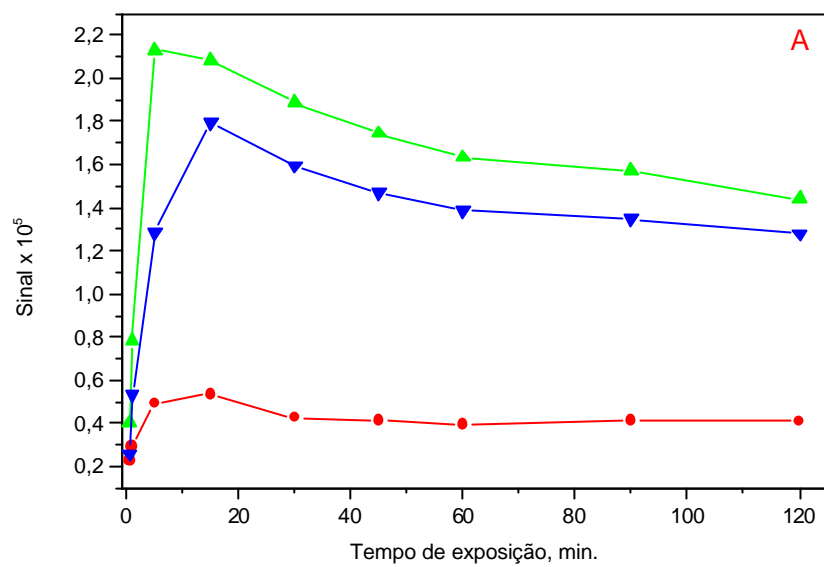


Figura 24. SPME com uso da cela *flow-through* e *flow-through* segmentada com bolhas de ar para extração de fenóis derivatizados com a fibra PDMS num sistema fechado. (A) cela *flow-through* e



(B) *flow-through* segmentado com bolhas de ar. Fenóis: ■ acetato de fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ), ■ acetato de 2-cloro-fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e ■ acetato de 2,4-dimetil-fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ).

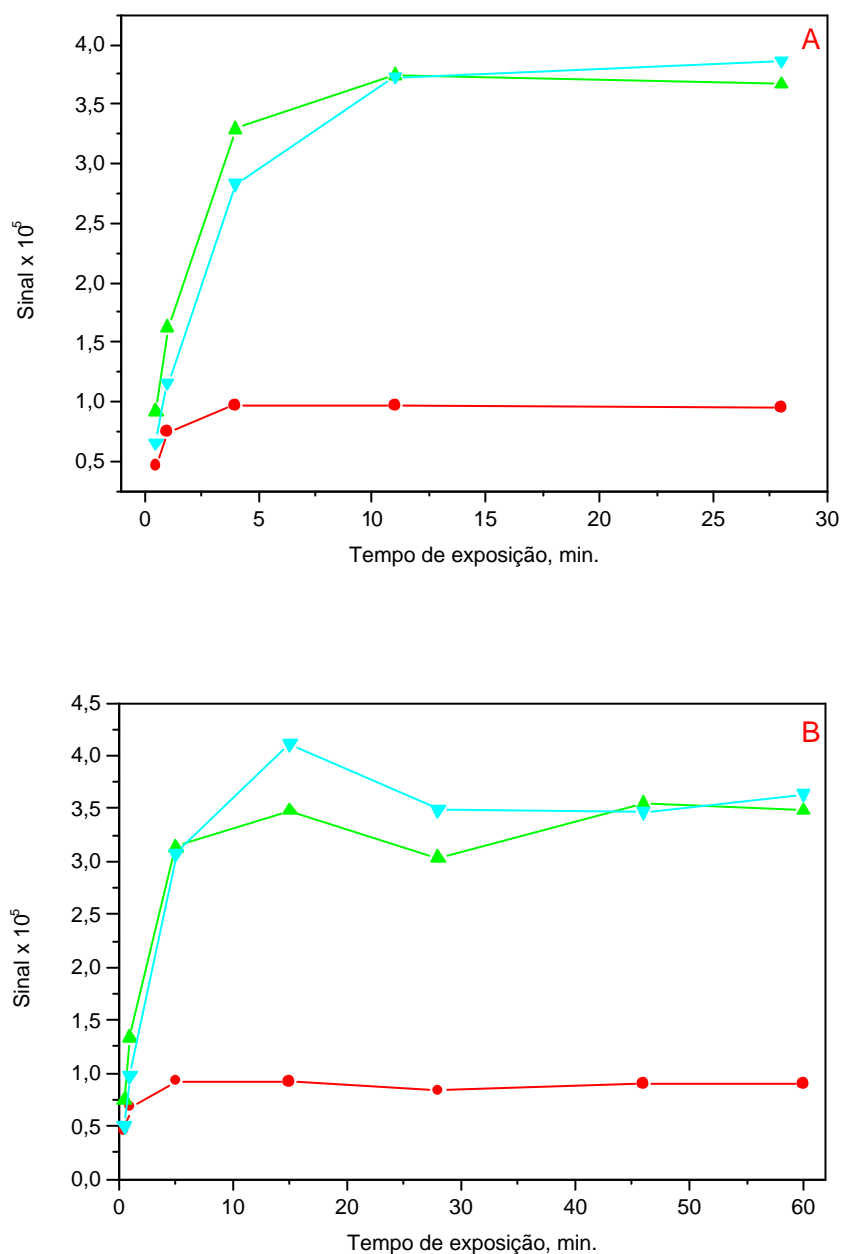


Figura 25. SPME com uso da cela *flow-through* e *flow-through* segmentada com bolhas de ar para extração de fenóis derivatizados com a fibra PDMS, num sistema aberto com o descarte da amostra.(A) cela *flow-through* segmentado com bolhas de ar e (B) cela *flow-through*. Fenóis:

■ acetato de fenila ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), ■ acetato de 2-cloro-fenila ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ■ acetato de 2,4-dimetil-fenila ( $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).

Estes resultados sugerem que há interação dos analitos derivatizados com o tubo de Tygon®. Como resultado, observamos que a passagem da amostra primeiro pela cela de extração e depois pelo tubo de tygon® (sistema aberto) resultou num melhor perfil de extração, quando comparado com o experimento em que a amostra foi bombeada até a fibra de SPME num sistema fechado. Assim, num sistema aberto, não houve diminuição do sinal cromatográfico em tempos de exposição prolongados.

Uma vez definido o sistema aberto para o fluxo da amostra pela cela de amostragem, foi otimizada a vazão de amostra controlando-se a velocidade de rotação da bomba peristáltica, como realizado anteriormente durante os estudos da influência da vazão da amostra para os fenóis na forma livre, para os métodos “*flowthrough*” com e sem segmentação. A Figura 26 A e B mostra os resultados obtidos para a otimização da vazão de amostra, nos quais mediu-se o sinal cromatográfico referente a cada um dos três acetatos (acetato de fenila, acetato de 2-cloro-fenila e acetato de 2,4-dimetil-fenila) variando-se a vazão na faixa de  $0,17 \text{ mL min}^{-1}$  até  $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ . Verificou-se que os resultados obtidos nesta etapa do trabalho são similares àqueles obtidos durante a otimização da vazão da amostra contendo fenóis livres. Por outro lado, as curvas de saturação observadas para fenóis derivatizados mostram que a vazão ótima de trabalho, em aproximadamente  $1,10 \text{ mL min}^{-1}$  para ambos processos de agitação, é consideravelmente menor do que o valor otimizado de vazão para fenóis livres: em aproximadamente  $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ . Como discutido anteriormente, o aumento da vazão promove um decréscimo na espessura da camada-limite, fato novamente observado nas Figuras 26 A e B. Já a menor vazão ótima de trabalho, obtida durante os estudos com fenóis derivatizados deve-se, provavelmente, ao tipo de recobrimento utilizado: polidimetilsiloxano (PDMS). Uma vez que este recobrimento polimérico é líquido, espera-se que a difusão dos analitos seja mais rápida do que a correspondente difusão em recobrimentos sólidos, por exemplo, PA.

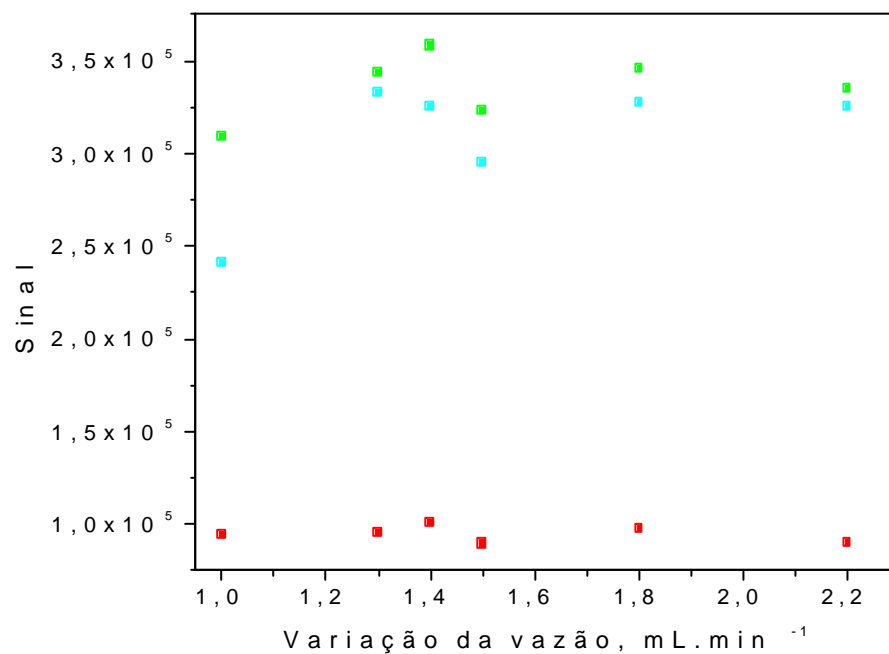
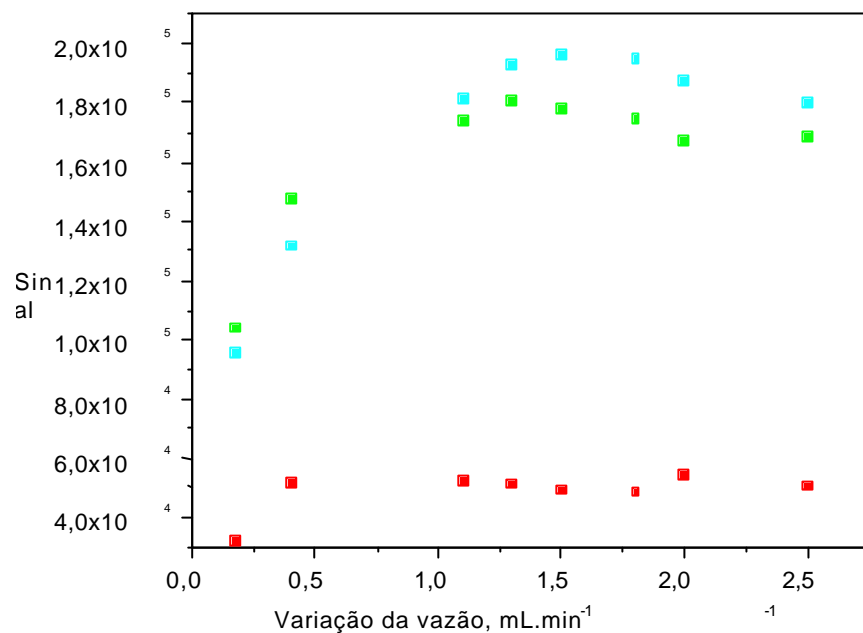


Figura 26. Influência da variação da vazão de 17 mL min<sup>-1</sup> – 2,5 mL min<sup>-1</sup> em função do sinal para três fenóis derivatizados: ■ acetato de fenila (0,2 µg mL<sup>-1</sup>), ■ acetato de 2cloro-fenila (0,2 µg mL<sup>-1</sup>) e ■ acetato de 2,4-dimetil-fenila (0,2 µg mL<sup>-1</sup>). Condições experimentais: Volume da amostra de

0,68 mL – 10 mL (sistema aberto); tempo de exposição: 4 min. Método de agitação: (A) cela *flow-through* e (B) cela *flow-through* segmentada.

#### 4.2.2. Obtenção das Figuras de mérito analítico

As Figuras 27, 28 e 29 mostram os resultados referentes à obtenção dos perfis de extração para três fenóis derivatizados (acetato de fenila, de 2cloro-fenila e de 2,4-dimetil-fenila) utilizando, respectivamente, agitação com barra magnética, cela *flow-through* e cela *flow-through* segmentada. Assim como observado para os experimentos com fenóis livres, as curvas resultantes de sinal vs. tempo de exposição para os três fenóis derivatizados apresentam uma característica em comum: observou-se em todos os casos um aumento inicial no sinal do CG, o qual é proporcional à quantidade de analito absorvido pela fibra; em seguida, atingiu-se um patamar em tempos de exposição mais prolongados.

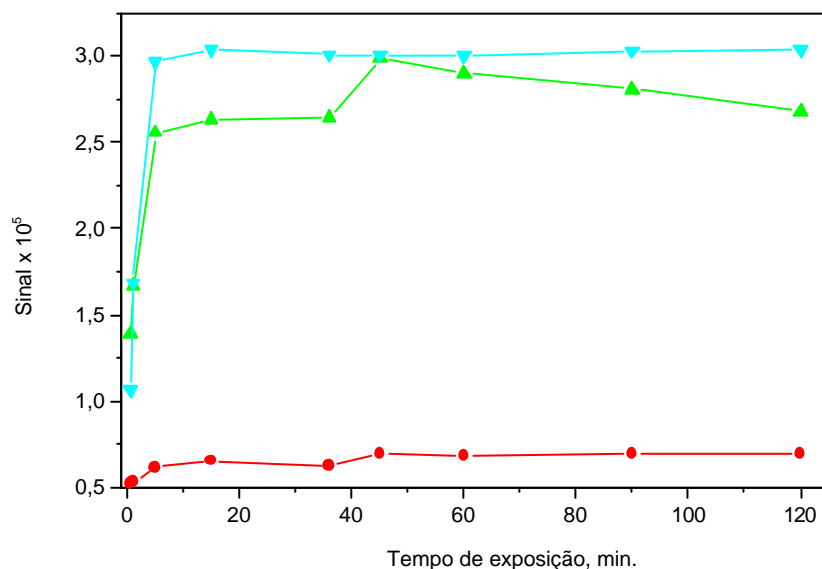


Figura 27. Perfis de extração dos três fenóis derivatizados durante o procedimento de SPME para fibra recoberta com polidimetilsiloxano (PDMS): ■ acetato de fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ), ■ acetato de 2 cloro-fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e ■ acetato de 2,4-dimetil-fenila ( $0,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ). Condições experimentais: Volume da amostra: 10 mL; método de agitação: barra magnética.

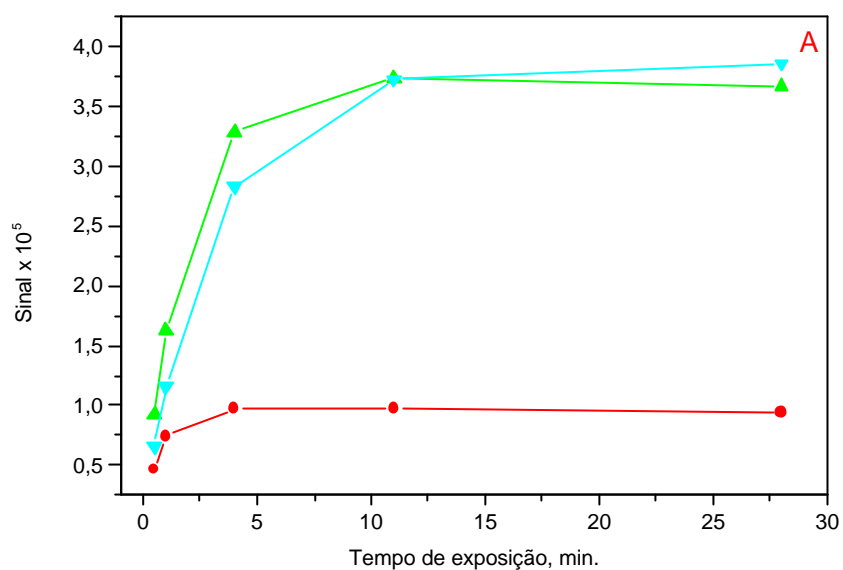


Figura 28. Perfis de extração de três fenóis derivatizados durante o procedimento de SPME para a fibra recoberta com polidimetilsiloxano (PDMS): ■ acetato de fenila (0,2 µg mL<sup>-1</sup>), ■ acetato de 2-cloro-fenila (0,2 µg mL<sup>-1</sup>) e ■ acetato de 2,4-dimetil-fenila (0,2 µg mL<sup>-1</sup>). Condições experimentais: Volume da amostra: sistema aberto; método de agitação: Cella *Flow-Through*; Vazão da amostra 2,5 mL.min<sup>-1</sup>.

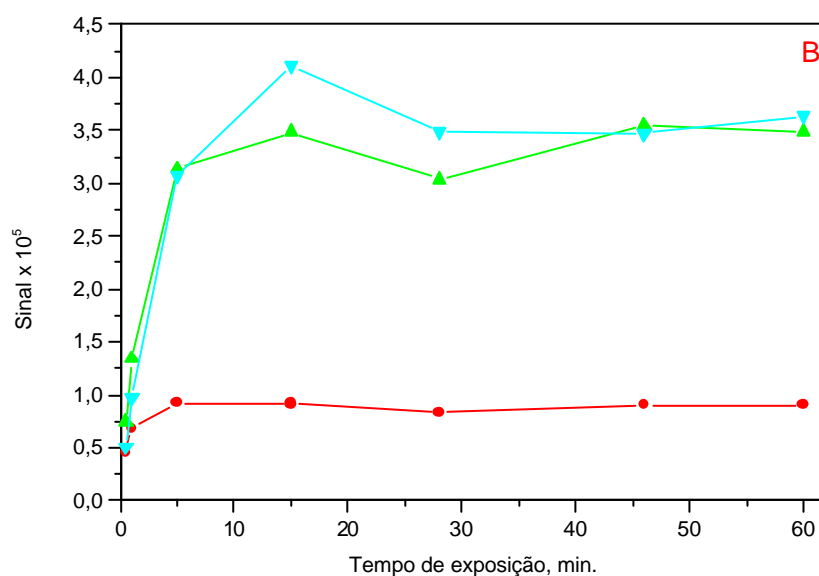


Figura 29. Perfis de extração de três fenóis derivatizados durante o procedimento de SPME para a fibra recoberta com polidimetilsiloxano (PDMS): ■ acetato de fenila (0,2 µg mL<sup>-1</sup>), ■ acetato de 2-cloro-fenila (0,2 µg mL<sup>-1</sup>) e ■ acetato de 2,4-dimetil-fenila (0,2 µg mL<sup>-1</sup>). Condições experimentais:

Volume da amostra: sistema aberto; método de agitação: Cella 'Flow-Through' segmentada com bolhas de ar; vazão da amostra 1,4 mL min<sup>-1</sup>.

Da Figura 27 observamos que os três fenóis derivatizados apresentaram tempos de equilíbrio mais próximos, sendo que o menor tempo de equilíbrio é de 15 min. para o composto acetato de 2,4-dimetil-fenila, enquanto que o maior tempo é de 35 min. para o composto acetato de 2-cloro-fenila. Da Figura 28, observamos que o menor tempo de equilíbrio é de 5,0 min. para o composto acetato de fenila, enquanto que o maior tempo é de 15 min. para o composto acetato de 2,4-dimetil-fenila. Da Figura 29, observamos que o menor tempo de equilíbrio é de 5,0 min. para o composto acetato de fenila, enquanto que o maior tempo é de 15 min. para os compostos, acetato de 2-cloro-fenila e acetato de 2,4-dimetil-fenila.

Inicialmente, a análise das Figuras 27, 28 e 29 revelou a notável queda nos tempos de equilíbrio para os compostos derivatizados, quando comparados com os tempos de equilíbrio dos fenóis livres. Tal observação pode ser explicada em termos do modelo que descreve o transporte de analitos do seio da solução até o recobrimento da fibra SPME<sup>29</sup>. Neste modelo, baseado nas Leis de Fick da difusão, a rapidez das extrações é limitada pela difusão dos analitos através da camada-limite e através do recobrimento da fibra. Sabe-se que a difusão de analitos em sólidos é muito mais lenta do que a difusão em líquidos. Uma vez que o poliacrilato é sólido, enquanto que o polidimetilsiloxano é líquido, conclui-se que a difusão dos analitos será muito mais rápida na fibra contendo polidimetilsiloxano. Como resultado disto, o tempo necessário para que se alcance o equilíbrio de partição dos analitos entre a fibra e a amostra é muito menor no caso da fibra com polidimetilsiloxano, quando comparado com o tempo de equilíbrio com a fibra contendo poliacrilato. Os resultados experimentais mostrados acima confirmam esta hipótese.

Além disso, foi possível comparar o efeito do método de agitação utilizado na eficiência da extração por SPME. Neste caso, observou-se que o uso da agitação com barra magnética resultou em extração menos eficiente, ou seja, resultou em perfis de extração com maiores tempos de equilíbrio. Por outro lado, os métodos *flow-through* e *flow-through* segmentado com bolhas de ar

apresentaram eficiência similar, sendo que em ambos os casos obtiveram-se tempos de equilíbrio aproximadamente três vezes menor do que os tempos de equilíbrio obtidos na extração SPME com agitação magnética. Uma possível explicação para estes resultados será apresentada na seção 4.3.

As tabelas 06, 07 e 08 descrevem as figuras de mérito para os três fenóis derivatizados que foram extraídos por SPME utilizando agitação com barra magnética, *flow-through* e *flow-through* segmentado, respectivamente.

Tabela 07. Figuras de mérito para três fenóis derivatizados extraídos por SPME com agitação magnética.

Compostos	A	B	RSD %	r	LD (µg L)
Acetato de Fenila	-2708	$1,94 \times 10^6$	7,5	0,9987	0,2
Acetato de 2-cloro-fenila	-4469	$6,97 \times 10^6$	5,7	0,9990	0,05
Acetato de 2,4-dimetil-fenila	-1248	$6,46 \times 10^6$	6,2	0,9992	0,03

A: coeficiente linear, B= coeficiente angular,  $RSD_{n=7}$ , r=coeficiente de correlação e LD=limite de detecção.

Tabela 08. Figuras de mérito para sete fenóis extraídos por SPME usando a cela *flow-through*.

Compostos	A	B	RSD %	r	LD (µg L)
Acetato de Fenila	-2708	$1,94 \times 10^6$	7,5	0,9987	0,2
Acetato de 2-cloro-fenila	-4469	$6,97 \times 10^6$	5,7	0,9990	0,05
Acetato de 2,4-dimetil-fenila	-1248	$6,46 \times 10^6$	6,2	0,9992	0,03

A: coeficiente linear, B= coeficiente angular,  $RSD_{n=7}$ , r=coeficiente de correlação e LD=limite de detecção.

Tabela 09. Figuras de mérito para três fenóis derivatizados extraídos por SPME usando a cela *flow-through* segmentada com bolhas de ar.

Compostos	A	B	RSD %	r	LD (µg L)
Acetato de fenila	2419	$1,87 \times 10^6$	5,8	0,9989	0,2
Acetato de 2-cloro-fenila	-3256	$6,81 \times 10^6$	5,8	0,9988	0,07
Acetato de 2,4-dimetil-	725	$5,88 \times 10^6$	2,1	0,9994	0,06

A precisão do método foi determinada realizando-se após 7 amostragens consecutivas da fibra SPME à amostras de fenóis, nas condições ótimas de trabalho do sistema de extração, que estão descritas na Figura 23, e dessorção no injetor do cromatógrafo a gás. Tanto para o cálculo do desvio padrão relativo (RSD) como para a obtenção da curva de calibração, o tempo de exposição da fibra recoberta com PDMS à solução de interesse foi de 8 min. para todos os métodos de agitação da amostra. Os valores referentes à precisão das medidas estão em boa concordância com dados da literatura<sup>27</sup>.

Com relação à precisão das medidas feitas com agitação magnética, valores de RSD variaram de 0,8 a 5%(Tabela 07). No caso da cela *flow-through* a precisão foi menor, porém ainda assim boa, sendo que o RSD variou de 5,7a 7,5%(Tabela 08). Finalmente, no caso da cela *flow-through* segmentada com bolhas de ar obteve-se também uma precisão alta, com uma faixa de RSD de 2,1 a 5,8%(Tabela 09).

No que diz respeito aos limites de detecção observou-se que os métodos *flow-through* e *flow-through* segmentada com bolhas de ar apresentaram limites de detecção similares, da ordem de 0,03 a 0,2  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Além disso, estes métodos apresentaram uma maior sensibilidade, quando comparados ao uso da agitação magnética, que apresentou LD na ordem de 0,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  a 0,3  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

#### **4.2.3. Comparação da eficiência dos métodos de agitação da amostra**

Os resultados obtidos no estudo comparativo de rendimento e eficiência, são similares aos observados em SPME de fenóis livres.



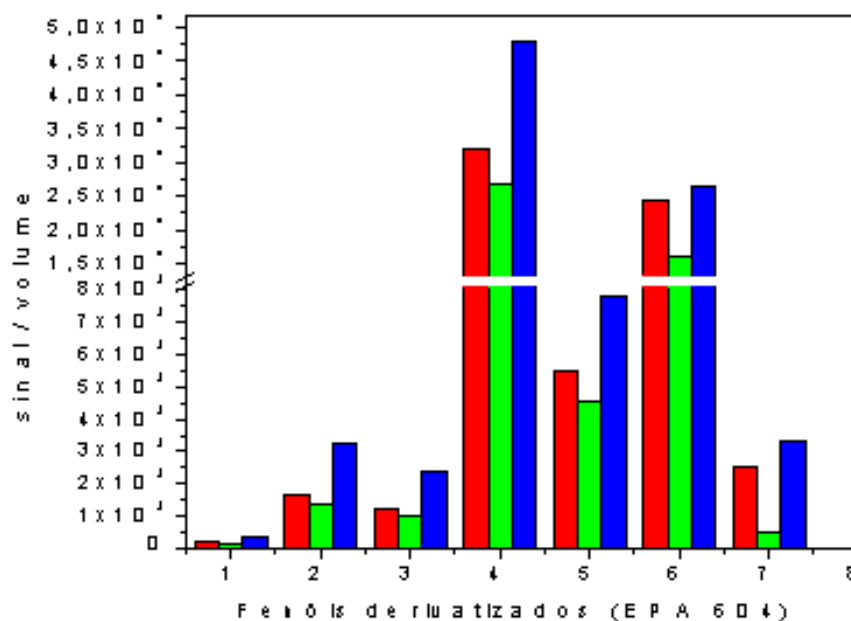


Figura 30. Comparação do rendimento da extração SPME de fenóis derivatizados para os diferentes métodos de agitação ■ agitação magnética ■ cela flow-through ■ cela flow-through segmentada com bolhas de ar. Fenóis: (1) acetato de fenila, (2) acetato de 2-cloro-fenila, (3) acetato de 2,4-dimetil-fenila, (4) acetato de 4-cloro-3-metil-fenila, (5) acetato de 2,4-dicloro-fenila, (6) acetato de 2,4,6-tricloro-fenila e (7) acetato de pentacloro-fenila. Condições experimentais: tempo de exposição: 4 min.; volume da amostra: sistema aberto; vazão para o método *flow-through*: 1,5 mL min<sup>-1</sup>; vazão para o método *flow-through* segmentado: 1,4 mL min<sup>-1</sup>.

A Figura 30 apresenta a comparação do rendimento da extração SPME de onze (11) fenóis derivatizados nos três métodos de agitação estudados neste trabalho, dos quais quatro não sofreram reação de derivatização.

De modo similar, a Figura 31 mostra o rendimento da extração SPME de fenóis derivatizados nas três diferentes condições de agitação estudadas.

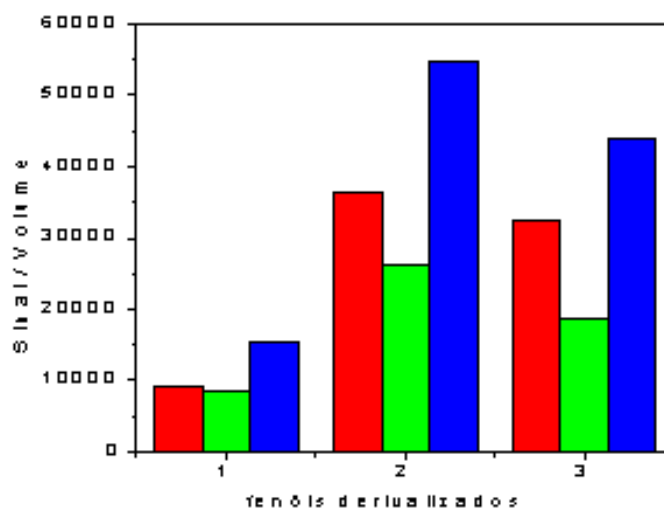


Figura 31. Comparação do rendimento da extração SPME de fenóis derivatizados para os diferentes métodos de agitação ■ agitação magnética ■ cela flow-through ■ cela flow-through/segmentada, para os seguintes analitos; composto (1) acetato de fenila, (2) acetato de 2-cloro-fenila e (3) acetato de 2,4-dimetil-fenila. Condições experimentais: tempo de exposição: 4 min.; volume da amostra: sistema aberto; vazão para o método *flow-through*: 1,5 mL min<sup>-1</sup>; vazão para o método *flow-through* segmentado com bolhas de ar: 1,4 mL min<sup>-1</sup>.

As Figuras 30 e 31 mostram claramente que o rendimento da extração de fenóis por SPME aumenta quando se usa a cela *flow-through* segmentada como método de agitação. Isto é confirmado pelo fato de que ambas as figuras apresentam razões sinal/volume maiores no caso de SPME com cela *flow-through* segmentada. Tal resultado sugere que a quantidade de analito retido pela fibra, por mL de amostra, é maior quando se usa o novo método de agitação,

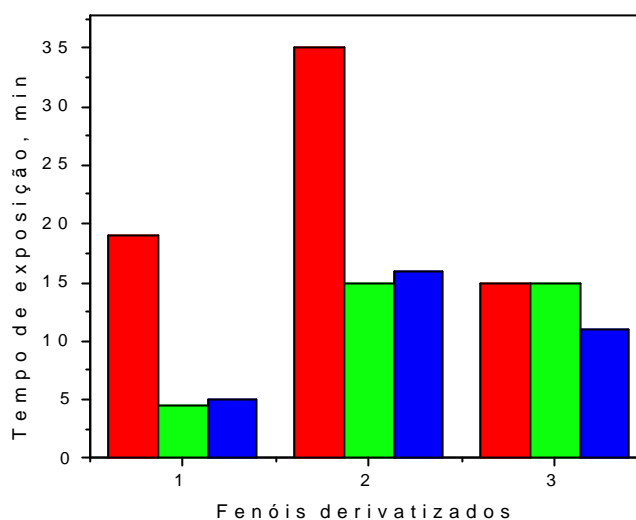


Figura 32. Comparação da eficiência da extração SPME para os diferentes métodos de agitação: ■ agitação magnética ■ cela "flow-through" ■ cela "flow-through"/segmentada com bolhas de ar para os seguintes analitos; composto (1) acetato de fenila, (2) acetato de 2cloro-fenila e (3) acetato de 2,4-dimetil-fenila. Condições experimentais: volume da amostra: sistema aberto; vazão para o método *flow-through*: 1,5 mL min<sup>-1</sup>; vazão para o método *flow-through* segmentado: 1,4 mL min<sup>-1</sup>.

A Figura 32 apresenta o tempo de exposição referente ao tempo de equilíbrio de partição dos fenóis derivatizados em função do método de agitação, para três fenóis: (composto 1) acetato de fenila, (composto 2) acetato de 2-nitro-fenila e (composto 3) acetato de 2,4-dimetil-fenila.

Observa-se, inicialmente, uma diminuição significativa no tempo de equilíbrio quando se utilizam os métodos *flow-through* e *flow-through* segmentado com bolhas de ar, se comparado aos tempos de equilíbrio obtidos com o uso da agitação com barra magnética. Portanto, conclui-se que a extração SPME com os métodos *flow-through* e *flow-through* segmentado com bolhas de ar são os mais eficientes, sendo que o último é pronunciadamente mais eficiente na extração do acetato de 2,4-dimetil-fenila.

No caso do acetato de fenila, a eficiência da extração é aproximadamente quatro vezes maior com o uso da cela *flow-through* segmentada com bolhas de ar do que com a agitação magnética (ou seja, o tempo de equilíbrio é quatro vezes menor). A extração do composto 2 com o novo método apresenta um ganho de eficiência de 170% quando comparado com a agitação com barra magnética; a

eficiência é similar, dentro dos limites de erro experimental à observada quando se usou o método de agitação *flowthrough* como base para comparação. Já o composto 3 apresenta um ganho de 67% com relação a ambos os métodos de agitação convencionais.

#### 4.3. Uma possível explicação para a eficiência da extração SPME com o novo método de agitação *flow-through* segmentado com bolhas de ar.

Além dos fatores determinantes da taxa de extração descritos na introdução deste trabalho (sec. 1.3), há ainda um outro fator que pode ser levado em consideração quando se busca a otimização da eficiência no processo de extração por SPME. Este fator também está relacionado à Segunda Lei de Fick da Difusão, que mostra haver um decréscimo do gradiente de concentração na camada-limite com o tempo.

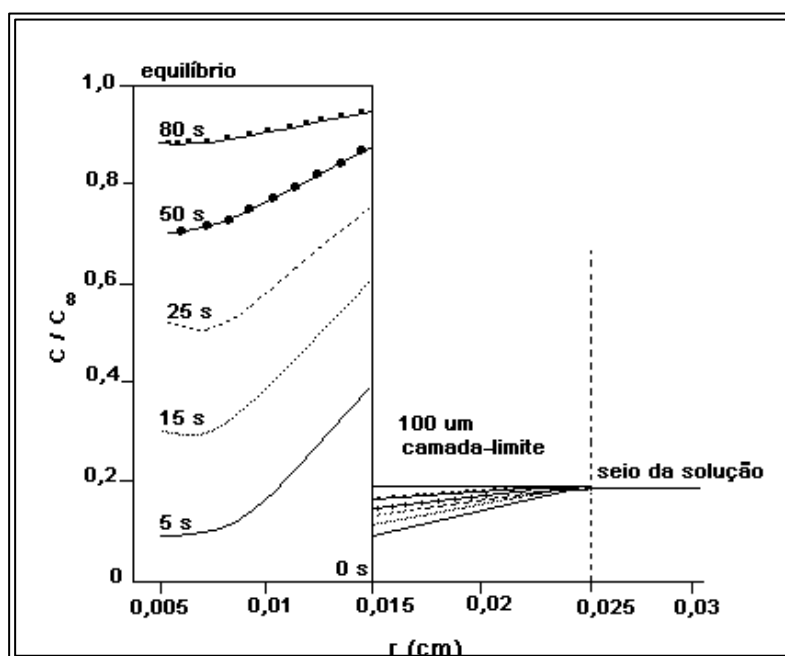


Figura 33. Perfis genéricos de concentração em função da distância com relação ao centro da fibra em diferentes tempos de exposição da fibra SPME à solução contendo um dado analito. Parâmetros utilizados: espessura do recobrimento: 100  $\mu\text{m}$ ;  $L = 1$  cm;  $D_s = 1,08 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ;  $D_f = 2,8 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ;  $K_{fs} = 5$ .

A Figura 33 mostra que, como resultado da formação da camada-limite e da Segunda Lei de Fick da Difusão, o fluxo de analito através da camada-limite em direção à fibra é cada vez menor à medida que o tempo passa. Sendo, entretanto, a quantidade de analito aumentada com o tempo. Isto, por sua vez, também

retarda o tempo necessário para que se alcance o equilíbrio de distribuição para a extração SPME, diminuindo assim a eficiência deste processo.

O sistema *flowthrough* segmentado com bolhas de ar busca a otimização da eficiência do processo SPME pela minimização da desvantagem causada pelo decréscimo temporal do gradiente de concentração de amostra da solução à fibra. Assim o novo sistema é baseado na idéia de tentar manter o gradiente de concentração o mais próximo possível do seu valor máximo. De acordo com a Segunda Lei de Fick da Difusão este valor máximo ocorre no instante inicial de interação da fibra com a solução (instante de formação da camada-limite), sendo que o gradiente de concentração começa a diminuir imediatamente após este contato inicial. Deste modo, buscou-se reproduzir o instante inicial de interação da fibra com a solução o maior número de vezes possível, para evitar (ao menos minimizar) o decréscimo do gradiente de concentração com o tempo.

O sistema *flow-through* segmentado atende a esta necessidade, pois intercalando a amostra com bolhas de ar há a renovação contínua da solução imediatamente ao redor da superfície da fibra. Ao mesmo tempo, esta segmentação impede um contato prolongado da amostra com o recobrimento da fibra, evitando desta forma o decréscimo do gradiente de concentração previsto pela Segunda Lei de Fick da Difusão. Por exemplo, considere o esquema 1, Figura 34, no qual procurou-se apresentar de maneira didática o processo de intercalação amostra/ar e as interações de cada uma destas fases com a fibra:

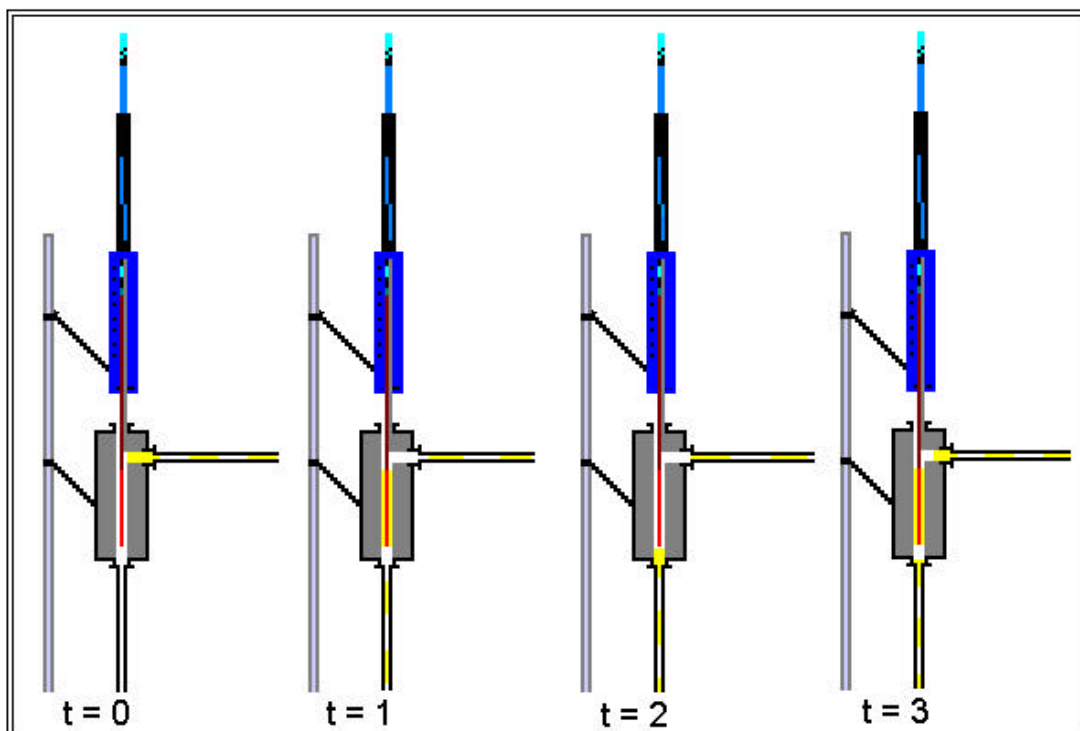


Figura 34. Etapas da extração de analitos por SPME com método de agitação *flow-through* segmentado com bolhas de ar. Para melhor visualização do processo, a segmentação amostra/ar é representada pelas cores amarela (amostra) e branca (ar), e a fibra é representada pelo bastão vermelho.

$t_0$  = no instante  $t_0$ , o sistema em fluxo já está segmentado (ar/amostra) mas ainda não entrou em contato com a fibra;

$t_1$  = em  $t_1$ , observa-se a interação da amostra com a fibra. Neste instante produz-se o máximo de gradiente de concentração;

$t_2$  = A renovação do sistema é dada em  $t_2$ , onde a passagem de uma bolha de ar remove parcialmente a solução de amostra, evitando assim que a exposição prolongada do recobrimento da fibra à solução provoque um decréscimo no gradiente de concentração (mas neste instante os analitos continuam difundindo para dentro do recobrimento da fibra);

$t_3$  = é basicamente uma repetição do instante  $t_1$ : há uma interação similar ao contato inicial do recobrimento da fibra com a solução. Esta interação resultará novamente num valor máximo do gradiente de concentração. Este processo será

repetido até alcançar o equilíbrio de partição do analito dentro do recobrimento da fibra.

Portanto, neste processo iterativo de renovação do contato inicial da solução com a fibra explica o aumento observado na eficiência do processo por SPME quando se testou o novo sistema com cela *flow-through* segmentada com bolhas de ar, quando comparado com a eficiência dos métodos convencionais de agitação.

De fato, a otimização deste “novo” parâmetro, ou seja, a maximização do gradiente de concentração pela intercalação de amostra com ar, pode ser aplicada também a outros métodos de agitação. Em outras palavras, qualquer método de agitação que possa incluir a alternância do contato da fibra entre solução e ar promoverá um aumento na eficiência de extração por SPME, quando comparada com a eficiência de seus análogos “não-renovados”. A generalização do comportamento observado com o uso da cela *flow-through* segmentada baseia-se no fato de que, em condições reais de agitação, sempre ocorre a formação da camada-limite, e a exposição continuada da fibra à solução retarda o processo de extração, independentemente do método de agitação utilizado.

Finalmente, é importante ressaltar que as discussões apresentadas neste capítulo aplicam-se igualmente aos dois casos de extração por SPME estudados neste trabalho: extração de fenóis livres pela fibra recoberta com poliacrilato (PA) e extração de fenóis derivatizados pela fibra recoberta com polidimetilsiloxano (PDMS). Isto é confirmado pela observação de que em ambos os casos houve um aumento na eficiência quando o método de agitação utilizado foi à cela *flow-through* segmentada com bolhas de ar. Portanto, os resultados e a discussão apresentada no presente trabalho indica que este novo método de agitação é mais eficiente do que os métodos de agitação convencionais e, além disso, indica que esta conclusão deve ser válida para outros tipos de amostras e fibras.



#### 4.4. Estudos preliminares de uma nova fibra de SPME

Os testes preliminares de micro-extração em fase sólida de fenóis livres, usando a nova fibra SPME recoberta com óxido de nióbio, foram realizados com o objetivo de buscar uma maior seletividade na extração SPME de analitos polares. Ao mesmo tempo, a produção de novas fibras caseiras também contribui para a diminuição dos custos de extração e análise para esta técnica.

Inicialmente, a nova fibra foi testada para a extração de analitos pouco polares. Como resultado, observou-se que não houve extração destes analitos por parte da nova fibra (figura 35).

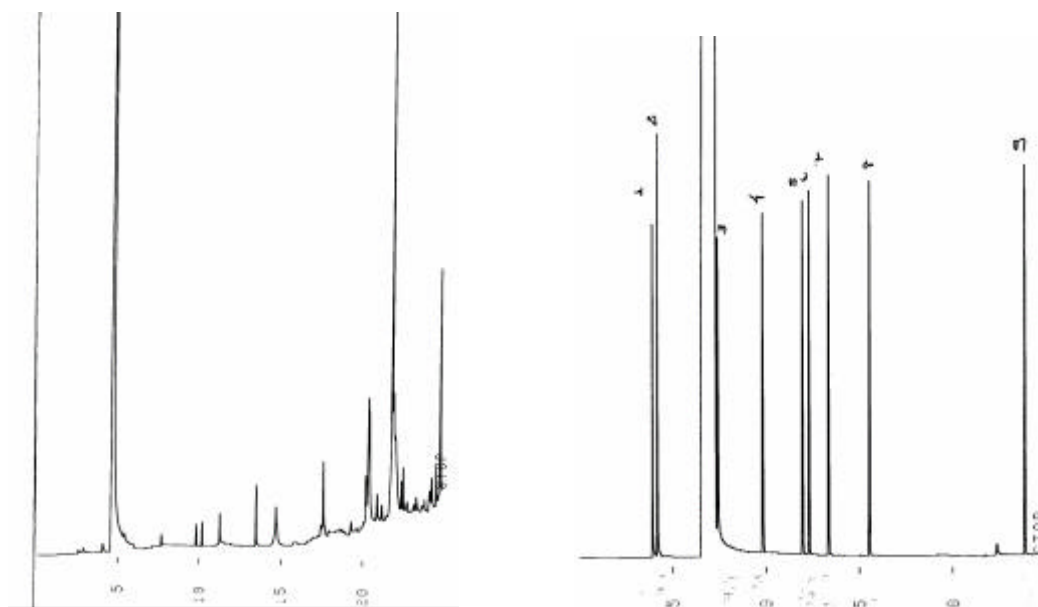


Figura 35. Esquerda: Cromatograma obtido após exposição da nova fibra a uma série de compostos apolares: (1) 3-metil-pentano, (2) tolueno, (3) m-xileno, (4) naftaleno, (6) benzeno, (7) etil-benzeno, (8) o-xileno, (9) 1,2,4-trimetil-benzeno, iso-octano. Direita: Cromatograma típico de separação da série de compostos apolares pela injeção de 1  $\mu$ L de solução padrão.

Como mostra a figura 35 (esquerda), não foi possível observar os analitos alvo após exposição da nova fibra para SPME-HS, uma vez que não observou-se sinal cromatográfico nos tempos de retenção característicos de cada composto (figura 35, direita).

Em seguida, a mesma fibra foi utilizada num estudo de SPME estático em fase gasosa para extração de dois fenóis livres: fenol e 2,4-dimetil-fenol. Para a análise no CG dos compostos extraídos, utilizaram-se as mesmas condições cromatográficas otimizadas descritas anteriormente (seção 4.1.1). A Figura 35 mostra os resultados obtidos durante a obtenção dos perfis de extração para os dois fenóis acima mencionados.

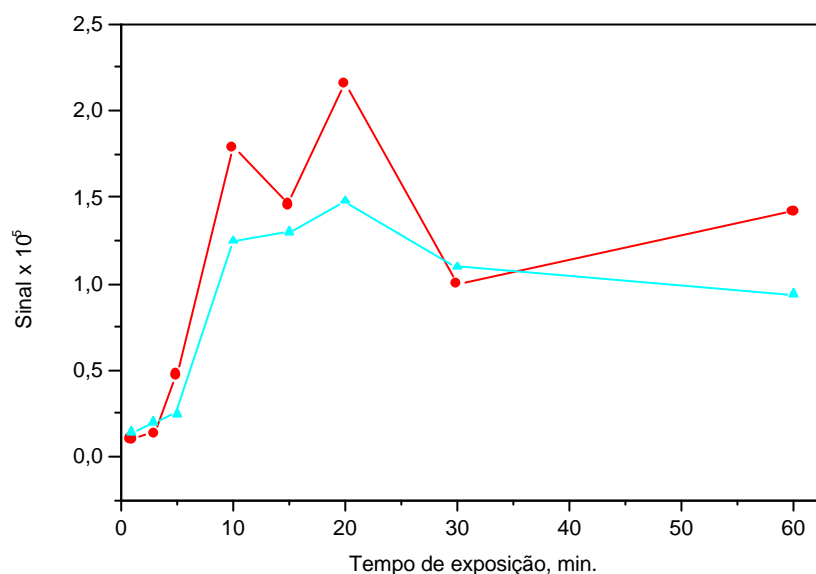


Figura 36. Perfis de extração de dois fenóis livres durante o procedimento de SPME estático em fase gasosa para a fibra recoberta com óxido de níbio: ■ fenol ( $0,06 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e ▲ 2,4-dimetil-fenol ( $0,06 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Volume da amostra:  $8,2 \text{ mL}$ .

Os perfis de extração obtidos para os dois fenóis livres apresentaram tempos de equilíbrio de aproximadamente 15 min., sendo que a tempos de exposição mais prolongados a intensidade do sinal cromatográfico não variou significativamente. É interessante observar que este tempo de equilíbrio é significativamente menor do que aqueles observados para SPME direta com a fibra de poliacrilato (seção 4.1), o que vem a confirmar o fato de que a difusão de analitos em fase gasosa é muito mais rápida do que em fases condensadas.

Em seguida, realizaram-se as curvas de calibração, no tempo de exposição otimizado (15 min.), para a obtenção das figuras de mérito (tabela 08).

Tabela 10. Figuras de mérito para dois fenóis extraídos por SPME estático em fase gasosa.

Composto	A	B	RSD %	r
Fenol	4788	301859	18,4	0,9910
2,4-dimetil-fenol	20934	226029	15,9	0,9996

A: coeficiente linear, B= coeficiente angular,  $RSD_{n=7}$ , LD=coeficiente de correlação.

Os estudos preliminares com a nova fibra resultaram em valores de RSD de 18,4% e 15,9% para fenol e 2,4-dimetil-fenol, respectivamente. Isto pode ser considerado como uma precisão satisfatória, tendo em vista que se trata de uma fibra nova ainda em processo de desenvolvimento e que está sendo utilizada para SPME estática em fase gasosa pela primeira vez para extração de fenóis livres. Além disso, observa-se que ambas as curvas de calibração apresentaram ótimos coeficientes de correlação, ou seja, valores muito próximos de um, indicando uma boa linearidade durante o uso da nova fibra. Finalmente, é importante ressaltar que a nova fibra apresentou seletividade para analitos polares, não tendo apresentado afinidade por compostos apolares.

## 5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

No presente trabalho, desenvolveu-se um novo método de agitação para o processo de micro-extração em fase sólida: o método *flowthrough* segmentado com bolhas de ar. As condições operacionais do trabalho foram otimizadas para este novo método, bem como para dois métodos de agitação convencionalmente usados em SPME: agitação com barra magnética e agitação com cela *flowthrough*.

Em seguida, realizou-se um estudo comparativo da eficiência do processo de SPME com uma fibra recoberta com poliacrilato (PA) para extração de um conjunto de fenóis livres considerados poluentes prioritários (EPA 604) com os três métodos de agitação citados acima. Em cada caso, obtiveram-se as figuras de mérito (curva de calibração, estimativa do desvio padrão relativo e limite de detecção), as quais apresentaram resultados coerentes com dados da literatura. Também foram obtidos perfis de extração com cada método de agitação e realizou-se a otimização da vazão de amostra para os métodos agitação em fluxo.

A comparação dos perfis de extração revela que o novo método de agitação, *flowthrough* segmentado, apresentou tempo de equilíbrio menor do que os observados para os métodos convencionais (agitação magnética e cela *flowthrough*). Como resultado, conclui-se que o novo método de agitação é mais eficiente. Propõe-se que a segmentação do fluxo de amostra com bolhas de ar resulte na maximização do gradiente de concentração e, conseqüentemente, do fluxo de analito da solução em direção à fibra. Este efeito é observado continuamente, uma vez que há uma constante renovação do contato da fibra com a solução contendo amostra.

Os experimentos de otimização da vazão de amostra para os métodos em fluxo revelaram que o aumento da vazão de amostra resultou num aumento na quantidade de analito extraído pela fibra, mantendo-se o tempo de exposição constante. Apresentou-se uma explicação para este efeito, quali- e quantitativa, em termos de um decréscimo na espessura da camada-limite à medida que a vazão de amostra aumenta.

Um estudo similar foi realizado com fenóis derivatizados extraídos por SPME com uma fibra recoberta por polidimetilsiloxano (PDMS). Os resultados obtidos durante a obtenção dos perfis de extração e otimização da vazão foram similares aos observados no estudo para os fenóis livres, indicando que o novo método de agitação é mais eficiente do que os métodos convencionais, independentemente do tipo de analito em estudo.

Finalmente, realizou-se um estudo da extração com SPME de uma amostra gasosa com uma nova fibra recoberta com óxido de nióbio, para a extração de dois fenóis livres: fenol e 2,4-dimetil fenol. Os perfis de extração obtidos resultaram em tempos de equilíbrios de 15 minutos. As figuras de mérito obtidas para estes dois fenóis sugerem que a nova fibra tem boas precisão, linearidade e sensibilidade.

Como perspectivas de trabalho, sugerimos a continuidade do desenvolvimento da fibra recoberta com óxido de nióbio, uma vez que os resultados preliminares obtidos com a nova fibra são promissores para a extração de fenóis. Além disso, a mesma fibra pode ser aproveitada para a aplicação na extração de outros compostos polares como, por exemplo, álcoois, aminas, etc. Outra perspectiva de pesquisa seria a combinação dos resultados positivos obtidos durante o presente trabalho, ou seja, o uso da SPME direta com o método de agitação *flow through* segmentada com bolhas de ar para outras classes de compostos e outras fases poliméricas.

Aplicação da técnica 'in tube' para a SPME com o novo sistema *flow-through* segmentado com bolhas de ar.

## REFERÊNCIAS

1. PROSEN, H., ZUPANCIC-KRAJL, L. *Solid-phase microextraction*, **Trends in Analytical Chemistry**, 18, 272, (1999).
2. PAWLISZYN, J. *New directions in sample preparation for analysis of organic compounds*, **Trends in Analytical Chemistry**, 14, 113, (1995).
3. BARNABAS, I.J., DEAN, J.R. e OWEN, S.P., **Analyst**, *Supercritical-Fluid Extraction Of Analytes From Environmental-Samples - A Review* 119, 2381, (1994).
4. JOHNSON, W.E, FENDINGER, N.J. e PLIMMER, J.R., *Solid-phase extration of Pesticides from water: Posible Interferences from Dissolved Organic Material*. **Analytical Chemistry**, 63, 1510, (1991).
5. LISKA, L., KRUPCIK, J. e LACLERCQ, P.A.. *The use of solid sorbents for direct accumulation of organic-compounds from water matrices - a review of solid-phase extraction techniques*, **J. High Resolut. Chromatogr.**, 12, 577, (1989).
6. BRINKMAN, U.A.Th., SLOBODNIK, J., VREULS, J.J. *Trace-level detection and determination of polar pesticides in surface-water – The SAMOS approach*, **Trends in Analytical Chemistry**, 13, 373, (1994).
7. ARTHUR, C.L, PAWLISZYN, J. *Solid-phase microextraction with thermal-desorption using fused-silica optical fibers*. **Analytical Chemistry** 62, 2145, (1990).
8. VALENTE, A.L.P., AUGUSTO, F. *Micro-extração por fase sólida*, **QUÍMICA NOVA**, 23, 523, (2000).

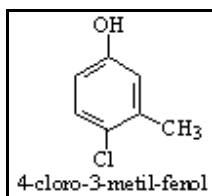
9. LORD, H., PAWLISZYN, J. *Evolution of solid-phase microextraction technology*, **Journal of Chromatography A**, 885, 153, (2000).
10. LOUCH, D., MOTLAGH, S., PAWLISZYN, J. *Dynamics Of Organic-Compound Extraction From Water Using Liquid-Coated Fused-Silica Fibers*, **Analytical Chemistry**, 64, 1182, (1992).
11. CHAI, M., ARTHUR, C. L., PAWLISZYN, J., BERLARDI, R. P., PRATT, K. F. [Determination Of Volatile Chlorinated Hydrocarbons In Air And Water With Solid-Phase Microextraction](#), **Analyst** 188 1501, (1993).
12. EISERT, R., LEVSEN, K., *Determination Of Organophosphorus, Triazine and 2,6-dinitroaniline Pesticides in Aqueous Samples via Solid-phase microextraction (SPME) and gas chromatography with Nitrogen-phosphorus Detection*, **Fresenius J. Anal. Chem.** 351 555, (1995).
13. PROPP, P., KALBITZ, K. G. Oppermenn, *Application of solid-phase microextraction and gas chromatography with electron-capture and mass spectrometric detection for the determination of hexachlorocyclohexanes in soil solutions*. **Journal of Chromatography A**, 687, 133, (1994).
14. PEÑALVER, A., POCURULL, E., BORRULL, F., MARCÉ, R.M. *Trends in solid-phase microextraction for determining organic pollutants in environmental samples*, **Trends in Analytical Chemistry**, 18, 8, 557, (1999).
15. LORD, H., PAWLISZYN, J. *Microextraction of Drugs*, **Journal of Chromatography A** pag. 63, (1994).
16. KISSINGER, P. T., HEINEMAN, W. R., *Laboratory Techniques in Eletroanalytical Chemistry*, 2<sup>o</sup> Edição Marcel Dekker, Nova Yorque, 12, (1996).

17. FOX, R.W., McDONALD, A. T., *Introdução a Mecânica dos Fluidos*. ed. 4- Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, capítulo 8 pag 215 (1998).
18. LACORTE, S.; FRAISSE, D.; BARCELÓ, D. *Efficient solid-phase extraction procedures for trace enrichment of priority phenols from industrial effluents with high total organic carbon content*. **Journal of Chromatography A**, 857, 97, (1999).
19. EISERT, R.; LEVSEN, K. *Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography: a new method for the analysis of organics in water*. **Journal of Chromatography A** 733, 143 (1996).
20. BACIOCCHI, R.; ATTINÀ, M.; LOMBARDI, G.; BONI, M.R. *Fast determination of phenols in contaminated soils*, **Journal of Chromatography A**, 911, 135, (2001).
21. Pan, L., Adans, M. and Pawliszyn, J. Determination of Fatty Acids Using Solid-Phase Microextraction, **Analytical Chemistry**, (67) pag. 4396, (1995).
22. Djozan D, Assadi Y, Haddadi SH *Anodized aluminum wire as a solid-phase microextraction fiber* **ANALYTICAL CHEMISTRY**, 73, 4054, (2001).
23. HARVEY, S.D.; NELSON, D.A.; WRIGHT, B.W.; GRATE, J.W. *Selective stationary phase for solid-phase microextraction analysis of sarin(GB)*, **Journal of Chromatography A**. 954, 217 (2002).
24. WANG, Z.; XIAO, C.; WU, C.; HAN, H. *High-performance polyethylene glycol-coated solid-phase microextraction fibers using sol-gel technology*. **Journal of Chromatography A**. 893, 157 (2000).



25. CHONG, S.L.; WANG, D.; HAYES, J.; WILHITE, B.W.; MALIK, A. *Sol-gel coating technology for the preparation of solid-phase microextraction fibers of enhanced thermal stability*. **Analytical Chemistry**, 69, 3889 (1997).
26. LEE X.P, KUMAZAWA T, SATO K, SENO H, ISHII A, SUZUKI O *Improved extraction of ethanol from human body fluids by headspace solid-phase microextraction with a carboxen-polydimethylsiloxane-coated fiber* **Chromatographia**, 47, 593 (1998).
27. BUCHHOLZ. K.D., PAWLISZYN, J. *Optimization of Solid-Phase Microextraction Conditions for Determination of Phenols*, **Analytical Chemistry**, , 66, 160-167 (1994).
28. SOUZA, E.S., CARASEK, E. *A new procedure for solid-phase microextraction using a flow-through system with air segmentation* **Analyst**, pág.603, (2002).
29. PAWLISZYN, J., *Solid Phase Microextraction: Theory and Practice*, Wiley-VCH, New York, (1997).
30. SUKOLA, K, KOZIEL J, AUGUSTO, F, PAWLISZYN, J. *Diffusion-based calibration for SPME analysis of aqueous samples*, **Analytical Chemistry**, 73(1),.13, (2001).
31. CRC **HANDBOOK** of Chemistry and Physics 1995-1996, 76<sup>th</sup> edição EUA.
32. BARTÁK P., CÁP, L. *Determination of phenols by solid-phase microextraction*, **Journal of Chromatography A**, 767, 171, (1997).

## APÊNDICE I: LEGISLAÇÃO DA ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA) PARA FENÓIS LIVRES



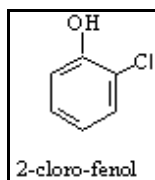
1) Composto: C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>O

Massa molar: 142,58 g mol<sup>-1</sup>.

Usos: Germicida externo; antisséptico; desinfetante, anti-fungal, etc.

Impacto ambiental: Exposição do composto à população em geral pode ocorrer através do consumo de água potável contaminada onde o composto tenha se formado inadvertidamente durante tratamento com cloro. Exposição à pele e inalação podem ser possíveis através do uso de produtos que contenham este composto em sua formulação.

Nível máximo permitido: 0,1 ppm.

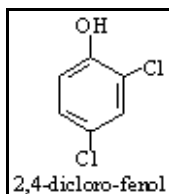


2) Composto: C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>ClO

Massa molar: 128,56 g mol<sup>-1</sup>.

Usos: Desinfetante, bactericida, germicida; síntese orgânica

Cuidados: Tóxico por absorção cutânea, inalação ou ingestão.



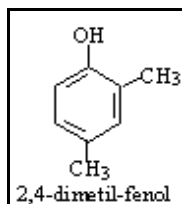
3) Composto: C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>O

Massa molar: 128,56 g mol<sup>-1</sup>.

Usos: Sínteses de antihemílticos para produção de herbicidas, antissépticos, desinfetantes, preservativos de madeira.

Cuidados: A população em geral pode ser exposta pelo consumo de água de torneira contaminada ou por inalação de água contaminada.

Nível máximo permitido: 0,21 ppm.



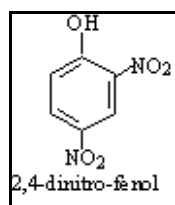
4) Composto:  $C_8H_{10}O$

Massa molar:  $122.16 \text{ g mol}^{-1}$ .

Usos: manufatura de fármacos, plásticos, inseticidas, aditivos para combustíveis, lubrificantes, usado como bactericida, desinfetante e germicida.

Cuidados: Exposição humana acontece principalmente pelo contato dérmico com substância contendo misturas fenólicas ou por inalação.

Nível máximo permitido: 0,4 ppm.

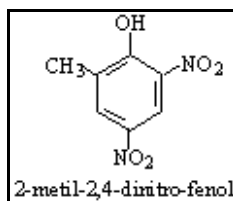


5) Composto:  $C_6H_4N_2O_5$

Massa molar:  $184.11 \text{ g mol}^{-1}$ .

Usos: Manufatura de corantes e diamino-fenóis preservativos de madeira, inseticida, reagente para detecção de potássio em amônia, explosivos, indicador ácido base, fungicidas, inseticidas domésticos.

Cuidados: Exposição por inalação em contato dérmico por trabalhadores envolvidos na manufatura, manuseio e uso deste composto.

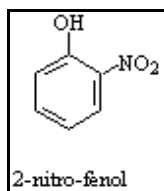


6) Composto:  $C_7H_6N_2O_5$

Massa molar:  $198.13 \text{ g mol}^{-1}$ .

Usos: Inseticida, fungicida, germicida.

Cuidados: risco de exposição dérmica e inalação por trabalhadores envolvidos na manufatura, formulação e aplicação do pesticida como aerosol.



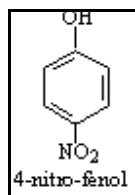
7) Composto:  $C_6H_5NO_3$

Massa molar:  $139.11 \text{ g mol}^{-1}$ .

Usos: Indicador ácido base, síntese de corantes, fungicidas, reagentes para detecção de glicose.

Cuidados: Exposição humana é a partir da inalação do ar ambiente.

Nível máximo permitido: 10-13,83 ppm.



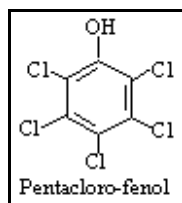
8) Composto:  $C_6H_5NO_3$

Massa molar:  $139.11 \text{ g mol}^{-1}$ .

Usos: Indicador ácido base, fungicida, intermediário na síntese dos inseticidas metil e etil paration, bactericida.

Cuidados: Exposição principalmente por inalação do ar ambiente. Também é possível ocorrer exposição dérmica ou inalação pela decomposição do paration.

Nível máximo permitido: 2,5 ppm.



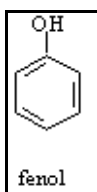
9) Composto:  $C_6HCl_5O$

Massa molar:  $266.35 \text{ g mol}^{-1}$ .

Usos: Herbicida, algacida, preservativo de madeira, fungicida, germicida, preservação de amidos.

Cuidados: a população em geral será exposta primeiramente por ingestão de comida contaminada com pentaclorofenol.

Nível máximo permitido: 1,6 ppm.

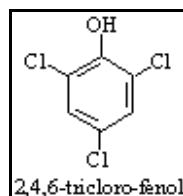


10) Composto:  $C_6H_6O$

Massa molar:  $94.11 \text{ g mol}^{-1}$ .

Usos: Desinfetante, manufatura de resinas, composto orgânicos para uso médico e industrial, tintas germicidas.

Nível máximo permitido: 5,9 ppm.



11) Composto:  $C_6H_3Cl_3O$

Massa molar:  $197.45 \text{ g mol}^{-1}$ .

Usos: herbicida, bactericida, fungicida, germicida.

Cuidados: exposição humana resulta do consumo de água contaminada. Inalação de ar contaminado por emissões da combustão de resíduos e combustíveis fósseis, também são fontes significativas de exposição humana.

Nível máximo permitido: 0,1 ppm.